

Aus der Medizinischen Tierklinik
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Diagnostische Bedeutung der alkalischen Phosphatase und ihrer Isoenzyme im Blutserum von Kühen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von
Katrín Timm
aus Gütersloh

Leipzig, 2008

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Karsten Fehlhaber

Betreuer: apl. Prof. Dr. Manfred Fürll

Gutachter: apl. Prof. Dr. Manfred Fürll, Veterinärmedizinische Fakultät der
Universität Leipzig, Medizinische Tierklinik, Leipzig
Prof. Dr. Helmut Hartmann, Fachbereich Veterinärmedizin der
Freien Universität Berlin, Institut für Veterinär-Physiologie, Berlin
PD Dr. Fausi Rassoul, Medizinische Fakultät der Universität
Leipzig, Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und
Molekulardiagnostik, Leipzig

Tag der Verteidigung: 13.11.2007

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen	III
1 Einleitung und Fragestellungen	1
2 Literatur	3
2.1 Struktur und Wirkungsweise der alkalischen Phosphatase	3
2.2 Lokalisation der alkalischen Phosphatase.....	4
2.3 Funktionen der alkalischen Phosphatase	5
2.4 Physiologische Einflussfaktoren auf die Gesamtaktivität der alkalischen Phosphatase im Serum	6
2.5 Veränderungen der Gesamtaktivität der alkalischen Phosphatase im Serum bei Krankheiten	9
2.6 Isoenzyme der alkalischen Phosphatase	10
2.6.1 Isoenzyme der alkalischen Phosphatase im Blutserum.....	11
2.6.2 Eigenschaften der Isoenzyme der alkalischen Phosphatase.....	12
2.6.3 Elektrophoretische Auftrennung der AP-Isoenzyme im Serum.....	13
2.6.4 Elektrophoretische Auftrennung der AP-Isoenzyme in Geweben.....	14
2.6.5 Intestinales Isoenzym der alkalischen Phosphatase	15
3 Tiere, Material, Methoden.....	23
3.1 Tiere	23
3.1.1 Untersuchungen an gesunden Tieren	23
3.1.2 Untersuchungen an Patienten der Medizinischen Tierklinik Leipzig ..	23
3.2 Material	24
3.2.1 Probengewinnung bei der Kontrollgruppe	24
3.2.2 Blutproben von Patienten der Medizinischen Tierklinik	25
3.3 Methoden	25
3.3.1 Klinisch-chemische Blutuntersuchung	25
3.3.2 Elektrophoretische Auftrennung der Isoenzyme der alkalischen Phosphatase im Blutserum.....	27
3.3.3 Interpretation und Auswertung der Migrationsmuster der Elektrophoresegele.....	29
3.4 Statistische Auswertung	32
4 Ergebnisse	34

Inhaltsverzeichnis

4.1	Untersuchungen an Kühen mit Diarrhoe	34
4.1.1	Untersuchungen zum Zeitpunkt der Erkrankung und der Rekonvaleszenz	37
4.1.2	Untersuchungen der in Gruppen unterteilten Krankheitskomplexe ...	41
4.1.3	Untersuchungen der einzelnen Erkrankungen	44
4.2	Untersuchungen an Kühen mit Leberbelastung	48
4.3	Untersuchungen an Kühen mit einer AP-Aktivität ≥ 300 U/l	54
4.4	Vergleichende Blutuntersuchungen zu Beginn und am Ende des Klinikaufenthaltes	56
5	Diskussion	58
6	Zusammenfassung	68
7	Summary	70
8	Literaturverzeichnis	72

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Abb.	Abbildung
AP	alkalische Phosphatase
ALAT	Alanin-Aminotransferase
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
Ba	Barium
BHB	Beta-Hydroxybuttersäure
Ca	Kalzium
CK	Creatinkinase
Cl	Chlorid
°C	Grad Celsius
d.h.	das heißt
DGKC	Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie
Ex. let.	Exitus letalis
g/l	Gramm pro Liter
G/l	Giga pro Liter
GEW	Gesamteiweiß
GGT	Gamma-Glutamyltransferase
GLDH	Glutamat-Dehydrogenase
GPI	Glykosyl-Phosphatidyl-Inositol
IAP	intestinale alkalische Phosphatase
l	Liter
LMV li	Labmagenverlagerung nach links
LMV re	Labmagenverlagerung nach rechts
M	Medianwert
Mg	Magnesium
ml	Milliliter
mmol	Millimol
Mn	Mangan
Mo.	Monat
µl	Mikroliter
µmol	Mikromol

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

n.s.	nicht signifikant
Pi	Phosphat, anorganisch
p.p.	post partum
± s	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
U/l	Units pro Liter (internationales Einheitensystem)
V	Volt
VARIAP	intestinal variant alkaline phosphatase
Wo.	Woche
\bar{x}	arithmetischer Mittelwert
Zn	Zink

1 Einleitung und Fragestellungen

Die alkalische Phosphatase ist als ein ubiquitäres Enzym bekannt, welches für die Hydrolyse von Phosphoestern zuständig ist. Eine Organschädigung führt zu einer Veränderung der Aktivität des jeweiligen Isoenzym im Blutserum (KATTHAB 1976). In der Tiermedizin kommt die AP-Isoenzymdiagnostik jedoch bisher nicht praktisch zum Einsatz. In der vorliegenden Arbeit soll die Aussagekraft der AP-Isoenzyme bei verschiedenen Erkrankungen untersucht werden. Weiterhin soll überprüft werden, ob sich dieses Verfahren für den Einsatz in Klinik und Praxis eignet.

Eine Diarrhoe führt je nach Typus zu einer Schädigung der Darmfunktion und des Dünndarmepithels. Da die AP im Dünndarm in den Enterozyten und in den Mikrovilli lokalisiert ist (KRAUTZIG et al. 1986), ist bei einer Diarrhoe eine Aktivitätsveränderung im Blut zu erwarten. Folgende Fragestellungen werden verfolgt:

1. Zeigt eine Aktivitätsveränderung der Gesamt-AP und / oder des intestinalen Isoenzym im Blutserum eine Funktionsstörung des Dünndarmes an?
2. Ist nach Abklingen der Diarrhoe die Wiederherstellung der Darmfunktion anhand der Gesamt-AP und / oder der intestinalen AP nachvollziehbar?
3. Ist der Schweregrad der Primärerkrankung, die zu einer Diarrhoe geführt hat, ermittelbar?

Bei Patienten mit einer Störung der Leberfunktion zeigt die klinische Erfahrung, dass es im Vergleich zu anderen leberspezifischen Enzymen, wie der GLDH und der GGT, erst im fortgeschrittenen Krankheitsverlauf zu einem AP-Aktivitätsanstieg kommt. Möglicherweise erhöht sich die AP-Aktivität also erst in einem fortgeschrittenen Stadium einer Lebererkrankung. Daher wurden bezüglich des in den Hepatozyten lokalisierten Leber-Isoenzym und der Gesamt-AP folgende Fragestellungen bearbeitet:

1. Wie verändert sich die Aktivität der oben genannten Parameter bei Leberfunktionsstörungen bei geheilten Patienten und bei euthanasierten bzw. verstorbenen Patienten?
2. Ist anhand der Aktivitätserhöhung des Leber-Isoenzym und / oder der Gesamt-AP eine Prognose hinsichtlich des Ausgangs der Erkrankung möglich?

2 Literatur

2.1 Struktur und Wirkungsweise der alkalischen Phosphatase

Die AP ist ein zu der Gruppe der Monophosphoesterasen gehörendes Enzym. Sie katalysiert die Hydrolyse von monophosphorischen Estern mit verschiedenen Resten zu anorganischem P und dem entsprechenden Alkohol (MÖSSNER 1981, VAN HOOFF et al. 1994).

Die AP zeigt eine relativ breite Spezifität bei einem pH-Optimum von 8,5 – 10,7 (MORALES 1980) bzw. 10 – 11 (KOLB 1975). Sie tritt als dimeres Enzym mit einem Molekulargewicht von 125 bis 220 kDa auf (ENSINGER 1979). Der Dimer weist zwei symmetrische aktive Seiten auf, deren aktive Zentren Bindungsstellen für je zwei Atome Zn und ein Atom Mg besitzen (KOLB 1975, KYM u. WYCKOFF 1989). Zn ist ein Cofaktor der AP und hält durch seine koordinative Bindungen mehrere Aminosäureseitenketten in einer Anordnung fest, die zur Einleitung der chemischen Reaktion günstig ist. Außerdem kann es selbst durch weitere koordinative Bindungen das Substrat festhalten, polarisieren und zur Reaktion aktivieren. Das Mg-Ion dient ebenfalls zur Strukturhaltung und Aktivierung des Enzyms (BORSON 1977).

Weitere Aktivatoren der AP sind Mn-, Ca- und Cl-Ionen, Vitamin D₃, Gallensäuren, Ba, Mg-Chlorid, Zn-Sulfat, Coenzyme, Kinasen und einige Aminosäuren, wie z.B. Alanin (MANTEUFFEL 1972, KHATTAB 1976, LEUTHARD 1976, HATHOFF u. HARDISON 1979, NANJI 1982, BIKLE et al. 1984, BERESFORD et al. 1986, TARDIVEL et al. 1987, SHAKER et al. 1988). Diese Aktivatoren tragen zur Steigerung der Enzymaktivität und / oder zur Bildung des aktivierten Enzyms bei (MANTEUFFEL 1972).

Zu den Inhibitoren der AP zählen L-Phenylalanin, L-Arginin, L-Homoarginin, Imidazol, Harnstoff, EDTA, Oxalat, Zitrat, D-Penicillamin, Theophyllin und Insulin (KOLB 1975, KHATTAB 1976, ANTONOV 1979, THOMAS 1984, LEVY et al. 1986, FISHMAN 1989). In höherer Konzentration hemmen auch Zn-Ionen die AP-Aktivität, ebenso wie Quecksilberchlorid, Cobalt und Arsen (TARDIVEL et al. 1987, SHAKER et al. 1988).

Die AP ist ein Glykoprotein, dessen Kohlenhydratanteil am Molekulargewicht ca. 15 % beträgt (CATHDA et al. 1975). Laut ENSINGER (1979) schützen die Kohlenhydrate das Enzym gegen proteolytische Angriffe.

2.2 Lokalisation der alkalischen Phosphatase

Die AP kommt in allen Spezies von Bakterien bis zum Säugetier mit einem hohen Grad an Homologie vor (VAN HOOFF et al. 1994). Außer im hyalinen Knorpel und in den Gefäßwänden ist sie in allen Geweben und Flüssigkeiten des Organismus anzutreffen (BOMHARD 1971). Sie ist z.B. in Leber, Darm, Knochen, Plazenta, Nieren, laktierender Milchdrüse, Milz, Knochenmark, Haut, Blutgefäßen und Leukozyten nachweisbar (GREUNER-SIGUSCH 1977, HAMMER 1978), aber auch in Urin, Fäzes, Milch, Galle, Serum, Lymphe, Synovia und Schweiß (POSEN 1967).

Entlang des Darmkanals befindet sich die AP in den Mikrovilli und in den Enterozyten (KRAUTZIG et al. 1986). In den Nieren ist sie in den Mikrovilli des proximalen Tubulus, in der Leber in den Plasmamembranen und im Knochen in hypertrophen Knorpelzellen, Osteoblasten und Osteozyten lokalisiert (KHATTAB 1976).

Innerhalb der Zelle befindet sich der größte Anteil der AP in den Lysosomen und der Rest in den Mitochondrien oder im Zytoplasma (BOMHARD 1971). An den Plasmamembranen der Zelle verankert ein hydrophobes molekulares Gebiet die AP, wobei sie Interaktionen mit anderen Proteinen und Lipiden eingeht (MOSS 1982).

Beim Rind ist die höchste AP-Aktivität in Niere, Uterusschleimhaut, Dünndarmschleimhaut, Knochen und Plazenta gemessen worden (KELLER 1971, KOLB 1975, KOLB u. SCHMIDT 1976, ANTONOV 1979, MÖSSNER 1981). In Leber, Lunge und Milz hingegen liegt eine geringe spezifische Aktivität vor (ANTONOV 1979). Die niedrigste Aktivität entdeckte KOLB (1975) im Herz- und Skelettmuskel und im Gehirn (KOLB u. SCHMIDT 1976).

Die Untersuchung von Enzymaktivitäten in Rinderorganen im Rahmen einer Studie der Medizinischen Tierklinik ergab folgende Ergebnisse: hohe AP-Aktivitäten in Uterus (1000 U/l), Niere (547,2 U/l), Leber (212,4 U/l) und Lunge (209 U/l); niedrige AP-Aktivitäten in Rückenmuskulatur (65,8 U/l), Harnblase (33,2 U/l), Herz (11,6 U/l), Labmagen (10,4 U/l) und Muskulatur (3,8 U/l).

Obwohl regelmäßig hohe AP-Aktivitäten in der Niere festgestellt worden sind, konnte RUMMER (1998) bei der Untersuchung des Verhaltens von Harnenzymen bei Kühen unter physiologischen Bedingungen nur selten AP-Aktivität im Harn messen.

In der Synovia von Rindern und Schweinen liegt mit 150 U/l eine höhere durchschnittliche AP-Aktivität vor als im Blutserum (GRÜN et al. 1978).

LAUWERS et al. (1974) untersuchten die Verteilung der AP-Aktivität im proximalen Verdauungstrakt und in den Vormägen des Rindes. In den Speicheldrüsen, im Ösophagus und im Mageninhalt entdeckten sie keine Aktivität. In der Pansen- und Haubenschleimhaut liegt mit 259 U/l bzw. 200 U/l eine hohe Aktivität vor im Vergleich zur Omaschleimhaut mit 71 U/l. Allerdings soll die AP-Lokalisation und -Intensität in den Vormägen altersabhängig sein (GEORGIEVSKII u. DEGTJAREV 1975) und auch die Fütterung soll einen Einfluss haben. So wird bei mit Rauhfutter aufgezogenen Kälbern eine höhere AP-Aktivität im Pansen vorgefunden als bei mit Milch ernährten oder fastenden Kälbern. Dies wird durch eine stärkere Abrasion des Epithels bei der Verdauung von Rauhfutter erklärt (FAY et al. 1981).

2.3 Funktionen der alkalischen Phosphatase

Die AP spielt eine außerordentlich wichtige Rolle im Intermediärstoffwechsel. Beim Auf- und Abbau von Kohlenhydraten, Lipiden und Nukleinstoffen entstehen als Zwischenprodukte Phosphorester, die von der AP hydrolysiert werden (KOLB 1955). Ihre exakte physiologische Rolle ist jedoch noch unbekannt.

Da die AP vorwiegend an und in Membranen vorkommt, an denen ein aktiver Transport von Substanzen stattfindet, wird hier eine mögliche Funktion der AP vermutet. So könnte sie z.B. an den Membranen von Dünndarmenterozyten für den Transport von Lipiden (VAN HOOFF et al. 1994) und anderen Nährstoffen und Metaboliten (MÖSSNER 1981) zuständig sein und somit an der Verdauung beteiligt sein (KRAUTZIG et al. 1986). LINSCHKEER et al. (1977) stellten eine Anreicherung der AP-Aktivität an der Oberfläche resorbierter Fettpartikel in der Lamina propria des Darmes fest.

In der Leber spielt die AP eine Rolle für den Transport und die Metabolisierung von Lipiden, wie Cholin, Phosphorylcholin und Phosphatidylcholin. Ein intensiver Fettstoffwechsel führt zu einer zunehmenden Aktivität der AP in den Hepatozyten, die mit einer erhöhten Cholinexkretion in die Galle verbunden ist. Dabei wird die membrangebundene AP für die Hydrolyse des Phosphorylcholins verantwortlich gemacht, so dass das dephosphorylierte Cholin die Zellmembran durchdringen und in die Gallenkanälchen gelangen kann (PEKARTHY et al. 1972).

Außerdem ist die AP am Ossifikationsprozess beteiligt. Sie ist für die Synthese des Osteoids wichtig, stellt Pi -Ionen durch die Spaltung von Phosphoestern zur

Verfügung und beseitigt Pyrophosphat, welches die Kalkablagerung verhindert und somit als Inhibitor der Knochenmineralisierung gilt (LIERSCH 1970, CROFTON 1982).

Die Beteiligung der leukozytären AP am bakteriziden System der neutrophilen Granulozyten wird kontrovers diskutiert. Bewiesen scheint aber, dass die leukozytäre AP eine Funktion bei der Endotoxinspaltung übernimmt, wie Untersuchungen an neutrophilen Granulozyten von Menschen und Ratten zeigen. Auch bei Rindern mit entzündlichen Erkrankungen sind stark erhöhte Aktivitäten der leukozytären AP festgestellt worden, welche aber nicht immer mit einer gleichzeitigen Leukozytose einhergehen (PETZOLD 2001).

Van Veen et al. (2005) stellten eine entzündungshemmende Wirkung der bovinen intestinalen alkalischen Phosphatase fest. Es zeigte sich, dass bei Mäusen mit Peritonitis intravenöse Injektionen des intestinalen Isoenzym eine Dephosphorylierung von Lipopolysacchariden bewirkt und somit die lokale und systemische Entzündungsreaktion reduziert.

2.4 Physiologische Einflussfaktoren auf die Gesamtaktivität der alkalischen Phosphatase im Serum

Die AP-Aktivität im Blut ist altersabhängig. Es besteht ein unmittelbarer Zusammenhang mit der Ausbildung des Skelettsystems: Auf Grund der hohen Osteoblastenaktivität im Wachstum zeigen Jungtiere eine deutlich höher AP-Aktivität als adulte Tiere (KOLB 1955, EKMAN 1976, GRIMOLDI 1977, HIDIROGLOU u. THOMPSON 1980). MANTEUFFEL (1972) entdeckte bei den von ihm untersuchten Mastkälbern einen deutlichen Abfall der AP-Aktivität im Alter von 6 – 15 Wochen. Bei 16 – 54 Wochen alten Mastbullen konnte er jedoch keine Altersabhängigkeit feststellen. PETZOLD (2001) beschreibt einen signifikanten Niveauunterschied beim Übergang von der 8. zur 12. Lebenswoche. SHIMIZU et al. (1972) wiesen bei Holsteinrindern eine weitere Aktivitätsverringering im Alter von 18 – 36 Monaten nach. Auch bei adulten Rindern fallen bei dem Vergleich von bis zu 5 Jahre alten Tieren mit 5 – 9jährigen Tieren signifikante Unterschiede auf (BOMHARD 1971).

Während des Wachstums ist die AP-Aktivität direkt proportional zur P- und Ca-Konzentration im Serum (SHIMIZU et al. 1972). Bei Kühen ist die hohe Korrelation

zwischen Serum-AP-Aktivität und Serum-P nicht mehr festzustellen (HIDIROGLOU u. THOMPSON 1980).

KOLB und HADLICH (1973) fanden bei Kälbern mit 909 +/- 317 U/l die höchste AP-Aktivität im Serum verglichen mit jungen Mastbullen (323 +/- 108 U/l) und adulten Rindern (131 +/- 28 U/l). In der Galle und im Harn zeigte sich die höchste durchschnittliche Aktivität bei den jungen Mastbullen. Die Kälber folgten an dritter bzw. zweiter Stelle. Da die Kälber mit einer durchschnittlich hohen Serumaktivität eine niedrigere Harnaktivität als die Mastbullen aufweisen, besteht also kein unmittelbarer Zusammenhang zwischen der Aktivität im Serum mit der Harnaktivität. Der größte Teil der Harn-AP wird von den Zellen der Harnkanälchen abgegeben.

Bei Kälbern ist die AP-Aktivität auch abhängig von der Kolostrumaufnahme. Die höchste Aktivität zeigte sich, wenn das Kolostrum höchstens 12 Stunden p.p. aufgenommen worden ist. Dies ist einerseits zurück zu führen auf die Absorption der Kolostrum-AP und andererseits auf die angeregte endogene AP-Synthese (ZANKER et al. 2001).

Die Fütterungsart und -intensität sowie ein Futterwechsel beeinflussen die AP-Aktivität ebenfalls. So zeigen sich signifikante Aktivitätsunterschiede bei Fütterungsintensitätsstufen von 100%, 90% und 80%. Die Proteinversorgung korreliert ebenfalls positiv mit der Gesamtaktivität der AP (ROBERTS et al. 1972). Mit Sojaschrot gefütterte Mastbullen weisen eine signifikant höhere AP-Aktivität auf als bei Verwendung einer anderen Proteinquelle (BOMHARD 1971, MANTEUFFEL 1972) und bestimmte Aminosäuren wie Methionin, Cystin und Cystein können zu einer erhöhten Aktivität führen (SLESINGER 1968). Bei einer Umstellung von Maissilage auf Grünfutter kommt es ebenfalls zu einer Steigerung der AP-Aktivität im Serum (EKMAN 1976).

Wird der Mg-Anteil im Futter verringert, kommt es nach HIDIROGLOU und THOMPSON (1980) in Zusammenhang mit der Hypomagnesämie nicht zu einem Abfall der Serum-AP-Aktivität. KOLB (1975) hingegen wies nach einem eine Woche anhaltenden Mg-Mangel eine Verminderung der AP-Aktivität um 50% nach.

Die Zn-Versorgung korreliert positiv mit der AP-Aktivität. Somit ist die AP-Aktivität ein sensibler Marker für den Zn-Status von Kühen (KIRCHGEßNER et al. 1975, ROGA et al. 1993).

Auch zwischen der AP-Aktivität im Serum und der Vitamin A-, Pi-, Mn- und Bleikonzentration im Futter zeigte sich ein hoher positiver Korrelationskoeffizient (DAVIS et al. 1970, BLWOT et al. 1981, ROGA-FRANC et al. 1993).

Laut KOLB et al. (1982) führt eine suboptimale Ca-Versorgung beim Mastschwein zu einem Ansteigen der AP-Aktivität im Blut. MILLER et al. (1962) stellten bei Ferkeln bei steigender Ca-Versorgung einen Abfall der Serumaktivität fest.

Eine Vitamin D-Mangelversorgung führt zu erhöhten AP-Aktivitäten im Serum, während eine Überversorgung zu einer Aktivitätsverminderung führt (FICHTNER 1978, RICHTER et al. 1989).

ANTONOV und MALCHEVSKI (1983) sowie VALDEZ et al. (2002) fanden in Bezug auf das Laktationsstadium keine signifikanten AP-Aktivitätsunterschiede. BOMHARD (1971) hingegen entdeckte zu Laktationsbeginn eine hohe AP-Aktivität. Nach zwei Laktationsmonaten erreichte sie dann einen Tiefpunkt, um anschließend bis zur nächsten Geburt und Laktation wieder anzusteigen. Dies deckt sich ungefähr mit den Angaben von TASKER (1978), der bei trockenstehenden Kühen eine höhere AP-Aktivität vorfand als bei frisch laktierenden Kühen und denen von GRIMOLDI et al. (1977) und VANLALNGEKTA et al. (2003), die herausfanden, dass sich während einer Gravidität die AP-Aktivität von Tag 0 bis 35 erhöht und es signifikante Aktivitätsunterschiede an verschiedenen Trächtigkeitstagen gibt. Zum Zeitpunkt der Geburt ist die höchste Aktivität festzustellen (PETER et al. 1987).

Kühe mit einer hohen AP-Aktivität tendieren außerdem dazu, schneller wachsende Kälber zu haben. Eine Aktivitätsveränderung vor dem Abkalben jedoch korreliert negativ mit der Gewichtszunahme der Kälber (HIDIROGLOU u. THOMPSON 1980).

Im Hinblick auf das Geschlecht gibt es verschiedene Aussagen: KOLB (1975) entdeckte bei weiblichen Rindern eine höhere Aktivität als bei männlichen Tieren. MORIZONO et al. (1975) und ANTONOV und MALCHEVSKI (1983) jedoch fanden keine geschlechtsspezifischen Unterschiede.

Der zirkadiane Rhythmus beeinflusst die AP-Aktivität nur gering (EKMAN 1976). Im zirkumannualen Rhythmus stellte BOMHARD (1971) aber im Herbst einen Abfall der AP-Aktivität um die Hälfte fest verglichen mit Aktivitätswerten im Winter und Frühjahr.

Die AP-Aktivität zeigt eine große Schwankungsbreite bei verschiedenen Rinderrassen (KOLB 1955, YILMAZ 1986). Dies ist wahrscheinlich durch genetisch bedingte Rasseeigentümlichkeiten begründet. So sind innerhalb der Art wesentliche Unterschiede in der biochemischen Ausrüstung der Zelle möglich (KOLB 1955).

Nach MANTEUFFEL (1972) unterscheidet sich das individuelle Aktivitätsniveau des Einzeltieres signifikant von dem anderer Tiere derselben Rasse und Fütterungsgruppe. KOLB (1955) fand hierfür zwei mögliche Erklärungen: Einmal kann die individuelle Schwankungsbreite durch eine unterschiedliche Schilddrüsenfunktion hervorgerufen werden oder aber durch Unterschiede in der Ovarienfunktion. Die Injektion großer Mengen oestrogener Hormone führt zu einem vorübergehenden Anstieg der AP-Aktivität.

2.5 Veränderungen der Gesamtaktivität der alkalischen Phosphatase im Serum bei Krankheiten

SCHOTMAN (1963) entdeckte bei Lebererkrankungen (Stauungsikterus, Hepatitis, Leberzirrhose), Indigestionen, traumatischer Gastritis und Labmagenverlagerungen eine erhöhte AP-Aktivität im Serum. Bei den von ihm untersuchten Rindern mit Enteritis fand er hingegen keine erhöhte AP-Aktivität.

Bei einer traumatischen Reticulitis durch Fremdkörpereinwirkung steigt die AP-Aktivität an (IMREN 1981).

Bei der Untersuchung von Kühen mit Ketose fand VASILOV (1977) eine erniedrigte AP-Aktivität, die negativ mit der Ketonämie und Ketonurie korrelierte. PENEVA und GORANOV (1984) entdeckten bei Ketose keine Veränderungen der AP-Aktivität, aber einen leichten Anstieg bei anderen Störungen der Leberfunktion.

Eine Pansenazidose führt nach 24 Stunden zu einer Erniedrigung der Serum-AP-Aktivität. Nach 48 – 72 Stunden ist der Tiefpunkt erreicht: Die Aktivität beträgt dann nur 50 – 70% der Normalaktivität (ANTONOV et al. 1983). Auch KNYRIM (1993) stellte bei einer experimentell ausgelösten Pansenazidose bei Schafen die niedrigsten Aktivitäten der Gesamt-AP und ihres Knochen-Anteils nach Ablauf des 3. Versuchstages fest.

Bei einer metabolischen Azidose kommt es bei Rindern und Schafen ebenfalls zum Aktivitätsabfall. Dieser ist bei Jungtieren stärker ausgeprägt als bei Adulten. Die Erniedrigung ist aber als nicht signifikant anzusehen und somit eignet sich die Enzymuntersuchung in diesem Fall nicht zur Erbringung frühdiagnostischer Hinweise für pathologische Organveränderungen (FÜRLL et al. 1977, FÜRLL et al. 1993).

Kühe mit Retentio secundinarum zeigen eine erhöhte AP-Aktivität im Serum. Präpartale Veränderungen der Aktivität geben aber keinen Hinweis auf eine mögliche Nachgeburtsverhaltung p.p. (PETER et al. 1987, MOHANTY et al. 1994).

Die AP-Aktivität ist unverändert bei einer Weidetetanie, die mit einer Erniedrigung von Ca, Pi und Mg einhergeht. Aber von den a.p. und p.p. festliegenden Kühen (Ca und Pi erniedrigt, Mg unverändert) ist bei mehr als der Hälfte der Fälle die AP-Aktivität erhöht (LIEBETRAU et al. 1975).

Bei einer Mastitis sowie bei einer Endometritis weisen die erkrankten Kühe eine erhöhte AP-Aktivität im Serum auf (FUQUAY et al. 1975, RAO u. SESHAGIRI 1998). Auch SCHOTMAN (1963) fand bei diesen Erkrankungen eine erhöhte Aktivität. Nach ATROSHI et al. (1996) steigt die AP-Aktivität bei einer Mastitis um 38% an.

Bei einer Osteomalazie des Rindes kommt es nur in fortgeschrittenen Fällen zu einer Veränderung der AP-Aktivität sowie der Ca- und Pi-Werte im Serum (XIA et al. 1994). Dem widersprechen die Angaben von KOLB und SCHMIDT (1976), die die Serum-AP-Aktivität zur Frühdiagnostik von Stoffwechselstörungen des Ca- und Pi-Haushaltes noch vor Auftreten von klinischen Erscheinungen als geeignet erklären.

2.6 Isoenzyme der alkalischen Phosphatase

Isoenzyme sind zu einer Enzymgruppe gehörende Enzyme unterschiedlichen Ursprungs, die die gleichen Funktionen erfüllen, aber in Bezug auf ihre enzymatischen Eigenschaften, wie z.B. der Empfindlichkeit gegenüber Hemmstoffen, und ihrer Protein- und Kohlenhydratstruktur Unterschiede aufweisen (KOMODA et al. 1981, BÁRDOS u. BUCHHOLCZ 1986). Daher können sie durch verschiedene Methoden der Proteinseparation, wie z.B. Elektrophorese oder Chromatographie,

getrennt werden oder durch ihr unterschiedliches Verhalten in Anwesenheit von Inhibitoren identifiziert werden. Diagnostisch sind Isoenzyme von Interesse, um Gewebeverletzungen aufzudecken (BÁRDOS u. BUCHHOLCZ 1986).

Die Isoenzyme der AP sind Glykoproteine, die von mindestens vier verschiedenen Genen kodiert werden. Die Gene exprimieren intestinale, plazentale, Keimzellen- und gewebeunspezifische AP. Knochen- und Leber-AP entstehen durch posttranslationale Veränderungen der gewebeunspezifischen Genprodukte.

Weiterhin können die Isoenzyme basierend auf ihren strukturellen Eigenschaften in Isoformen unterteilt werden: eine lösliche dimere AP und zwei hydrophobe Formen, die membrangebundene AP und die Glykosyl-Phosphatidyl-Inositol-Anker tragende AP. Im Serum gesunder Menschen kommen die AP-Isoenzyme der verschiedenen Gewebe hauptsächlich in der löslichen Form vor (VAN HOOFF et al. 1994).

Die bovinen Gewebe-APs sind in vier Antigenitätsgruppen unterteilt: intestinale, Knochen-, Leber- und Nieren-Plazenta-AP (MIYAZAWA u. TOMODA 1989).

2.6.1 Isoenzyme der alkalischen Phosphatase im Blutserum

Die Gesamtaktivität der AP im Blutserum setzt sich gemäß ihrer Ursprungsorgane aus verschiedenen Isoenzymen zusammen (GREUNER-SIGUSCH 1977). Nach BEHR und BARNERT (1986) bestehen aber Unterschiede zwischen den Isoenzymen im Serum und den entsprechenden Gewebe-Isoenzymen, weil die AP-Moleküle beim Durchschreiten der Zellmembranen mittels einer dort lokalisierten Glykosyltransferase modifiziert werden (LEHMANN 1980, LORENZ 1981).

Die Art und Anzahl der AP-Isoenzyme im Serum ist altersabhängig. Während der Wachstumsphase findet man im Blut auf Grund der hohen Osteoblastentätigkeit hauptsächlich Knochen-AP (KOLB 1975, ANTONOV u. MALCHEVSKI 1983). FERMIN und RODRIGUEZ (1982) entdeckten bei einigen 3 - 4 Wochen alten Kälbern zusätzlich intestinale AP, die aber nur 7% der Gesamtaktivität ausmachte. Auch bei 4 – 8 Monate alten Jungrindern war fast ausschließlich Knochen-AP im Serum nachweisbar. Bei Färsen im Alter von 2 – 3 Jahren ist auch das Leberenzym im Blut zu finden. Bei adulten nichtträchtigen Kühen werden schließlich drei Isoenzyme im Serum nachgewiesen, nämlich Leber-, Knochen- und intestinale AP (KOLB 1975, FERMIN u. RODRIGUEZ 1982). Während der Trächtigkeit erscheint zusätzlich noch das plazentale Isoenzym. Beim Bullen findet man als viertes

Isoenzym das aus der Prostata stammende Enzym (BÁRDOS u. BUCHHOLCZ 1986).

Im Pferdeserum fanden RUDOLPH et al. (1997) drei Isoenzyme. Die dominanten Formen stammen dabei aus Leber und Caecum.

Beim erwachsenen Menschen kommt im Serum hauptsächlich Leber- und Knochen-AP vor. Das intestinale Isoenzym ist häufiger im Serum von Personen mit Blutgruppe B oder 0 zu finden, während es bei Blutgruppe A oder AB häufig fehlt. Insgesamt fehlt es in 60% der Fälle. Wenn es im Serum vorhanden ist, nimmt es nicht mehr als 14% der Gesamtaktivität der AP ein (MOSS 1982).

Neben den so genannten physiologischen Isoenzymen aus Leber, Knochen, Darm und Plazenta, treten bei bestimmten Erkrankungen auch pathologische Isoenzyme im Serum auf. Dies sind das Regan-, Nagao- und Kasahara-Isoenzym sowie Komplexbildungen der AP mit Immunglobulinen und Lipoproteinen (MOSS 1987, VAN HOOFF 1994).

Zur Auftrennung der AP-Isoenzyme im Blutserum gibt es mehrere Möglichkeiten: Die ältesten Methoden sind Hitzedenaturation und spezifische Hemmung durch Aminosäuren. Neuere Methoden sind die Ausfällung der Knochen-AP mit Weizenkeim-Lektin und der Einsatz von poly- oder monoklonalen Antikörpern gegen bestimmte Isoenzyme. Desweiteren kann man Elektrophoresen auf Agarosegel, Polyacrylamidgel, Celluloseacetat-Folien oder Immunelektrophoresen durchführen (KOLB 1975, KOLB u. SCHMIDT 1976, ANTONOV 1979, MIYAZAWA u. TOMODA 1991, VAN HOOFF et al. 1994).

2.6.2 Eigenschaften der Isoenzyme der alkalischen Phosphatase

KOLB (1975) und ANTONOV (1979) haben die Eigenschaften der AP in den Organen von Rindern und Schafen untersucht. Die AP-Isoenzyme können demnach in zwei Gruppen unterteilt werden:

- 1.) AP aus Leber, Lunge, Milz, Niere, Knochen, Plazenta: thermolabil, Phenylalanin-resistent, Arginin- und Homoarginin-sensitiv
- 2.) intestinale AP: thermostabil, Phenylalanin-sensitiv, Arginin- und Homoarginin-resistent

So kann die intestinale AP einfach von den anderen Isoenzymen differenziert werden. Knochen-AP zeigt die höchste Thermolabilität und kann so ebenfalls differenziert werden.

Harnstoff hemmt die Knochen-AP am stärksten und am geringsten die intestinale AP (ANTONOV 1979).

TARDIVEL et al. (1992) erreichten in vitro mit 200 mmol Phenobarbital eine nicht-kompetitive Hemmung der intestinalen AP. In vivo wurde die Darm-AP durch Phenobarbital stimuliert. Nieren-, Knochen- und Leber-AP wurden durch 10, 40 bzw. 55 mmol Phenobarbital gehemmt.

2.6.3 Elektrophoretische Auftrennung der AP-Isoenzyme im Serum

Die elektrophoretische Auftrennung gibt eine Übersicht über alle vorhandenen AP-Isoenzyme im Blutserum und ist ein wichtiges diagnostisches Hilfsmittel bei der Lokalisierung von Gewebeverletzungen. Allerdings ist keine der Elektrophorese-Methoden in der Lage, alle Isoenzyme komplett darzustellen. Daher sind oft ein oder mehrere Probenbehandlungen notwendig, um die Fraktionen korrekt zu identifizieren. Hierfür gibt es verschiedene Möglichkeiten:

- 1.) Die Veränderung der Mobilität eines Isoenzyms durch Zufügen eines poly- oder monoklonalen Antikörpers.
- 2.) Zugabe von Neuraminidase oder Weizenkeim-Lektin, welche an die Sialinsäurereste der Isoenzyme binden und so deren Mobilität verringern (SCHREIBER und WHITTA 1986, VAN HOOFF et al. 1994).

Ein Leber-Isoenzym und das Knochen-Isoenzym weisen aufgrund überlappender isoelektrischer Punkte eine sehr ähnliche Mobilität auf und bilden elektrophoretisch einen Komplex (SANDERINK et al. 1988). Da die Knochen-AP den höchsten Sialisierungsgrad aufweist, wird sie durch das Weizenkeimlektin ausgefällt und es kommt zur Auflösung der Komplexbildung. Die anderen Isoenzyme, mit Ausnahme der intestinalen AP, welche keine Sialinsäurereste besitzt, werden nur geringfügig verlangsamt (DESOIZE et al. 1987, VAN HOOFF et al. 1994). Laut RUDOLPH et al. (1997) wird beim Pferd neben der Knochen-AP auch ein großer Teil der Caecum-AP präzipitiert, was darauf schließen lässt, dass diese beiden Isoenzyme ähnliche Kohlenhydrat-Seitenketten besitzen.

BÁRDOS und BUCHHOLCZ (1986) führten eine Elektrophorese zum Nachweis von AP-Isoenzymen in bovinem Serum durch und erhielten insgesamt drei Isoenzym-Banden. Zwei Banden zeigten eine hohe Mobilität, während die dritte Bande nur langsam wanderte.

SCHREIBER und WHITTA (1986) stellten das Leber-, Knochen und das biliäre Isoenzym elektrophoretisch dar. Das Leber-Isoenzym wanderte am schnellsten zur Anode, gefolgt von dem biliären Isoenzym. Das Knochen-Isoenzym wurde mit Hilfe von Weizenkeimlektin nahe dem Auftragungspunkt ausgefällt. Leber- und Knochen-Isoenzyme wurden auf Agarosegel besser dargestellt als auf Celluloseacetat.

YIN et al. (1993) erhielten bei der Auftrennung der AP-Isoenzyme in Rinderserum per Polyacrylamidgel-Elektrophorese fünf Banden, die sie nach ihrer Mobilität „fast“ (SF) und „slow 1 bis 4“ (SS 1-4) nannten. SF und SS 1 stellten die Hauptbanden dar, zusätzlich erschienen ein bis drei langsamere Banden. SF, SS 1 und SS 2 konnten als AP aus Leber, Knochen und Darm identifiziert werden. Die Leber-AP-Bande konnte weiter in zwei schnelle und eine langsame Bande unterteilt werden.

Bei der Untersuchung von fetalem Serum und Serum von 22 Tage alten Kälbern mit Celluloseacetat- Elektrophorese entdeckten MIYAZAWA und TOMODA (1991) beim Fetus eine Bande und beim Kalb zwei Banden. Die erst postpartal nachgewiesene Bande konnte als Nieren-AP identifiziert werden.

2.6.4 Elektrophoretische Auftrennung der AP-Isoenzyme in Geweben

KOLB und SCHMIDT (1976) führten eine Polyacrylamidgel-Elektrophorese von verschiedenen Geweben des Rindes in unterschiedlichen Puffersystemen durch und erhielten abweichende Ergebnisse: Bei Verwendung eines Tris-Zitronensäure-Puffers mit pH 8,65 erhielten sie bei den meisten Geweben zwei Isoenzyme: ein schnell wanderndes, hochaktives und ein langsam wanderndes Isoenzym mit geringer Aktivität. Ausnahmen waren die Leber mit insgesamt drei Isoenzymen (zwei hochaktiv und eins gering aktiv) und Plazenta und Hoden, wo jeweils nur ein hochaktives Isoenzym gefunden wurde. Bei der Elektrophorese mit einem Tris-Borat-Puffer mit pH 9,5 waren folgende Unterschiede festzustellen: in der Uterusschleimhaut gab es zwei hochaktive Isoenzyme, in Leber, Milz, Lunge und Knochen nur ein hochaktives Isoenzym und in der Plazenta drei Isoenzyme.

ANTONOV (1979) wies beim Rind mit einer Elektrophorese in Agarose für die Leber-AP zwei Isoenzyme nach, die verglichen mit der AP aus anderen Organen am schnellsten wanderten. Knochen- und Plazenta-AP folgten darauf mit je einem Isoenzym, anschließend Lungen-, Milz- und Darm-AP mit ebenfalls je einem Isoenzym. Die langsamste Mobilität zeigte das Nieren-Isoenzym.

Beim Pferd entdeckten RUDOLPH et al. (1997) in Knochen-, Leber- und Nierenextrakten jeweils zwei Isoenzyme, die eine unterschiedliche Mobilität zeigten. Auch hier wanderten die Leber-Isoenzyme am schnellsten.

Das zweite, langsamere Leber-Isoenzym wird auch als „fast liver“ oder „high-molecular mass“ AP bezeichnet (VAN HOOFF et al. 1994, WOLF 1994).

2.6.5 Intestinales Isoenzym der alkalischen Phosphatase

Entlang des Darmkanals befindet sich die intestinale AP in den Mikrovilli und in den Enterozyten (KRAUTZIG et al. 1986) und wird von den Enterozyten sowohl in das Blut als auch ins Darmlumen abgegeben (ELIAKIM et al. 1990). Nach EHLE et al. (1985) ist die Gesamtaktivität der AP nur zu 20% in der Schleimhaut lokalisiert. Die restlichen 80% der Aktivität liegen intralumenal. Dieser Anteil weist auch eine zehnfach höhere spezifische Aktivität auf als der in der Schleimhaut. Die intralumenal und die in der Mucosa gefundene AP ähneln sich aber in Antigenität, pH-Optimum und Hemmung durch Aminosäuren.

Im Vergleich zu anderen Darmabschnitten erhöhte Aktivitäten der intestinalen AP findet man im Duodenum, Jejunum und Ileum, wobei im Duodenum die höchste Aktivität vorliegt (MORALES 1980). Die Aktivität nimmt, auf die verschiedenen Darmabschnitte bezogen, von cranial nach caudal ab: Duodenum = craniales Jejunum > mittleres Jejunum > Ileum > Colon (BYWATER 1968, KRAUTZIG et al. 1986, WADA et al. 2002). Bei Kälbern liegen in den jeweiligen Darmteilen höhere Aktivitäten vor als bei adulten Rindern. Erwachsene Kühe weisen schon im Ileum keine Aktivität auf, während Kälber noch im cranialen Colon AP-Aktivität zeigen (BYWATER 1968). Das Molekulargewicht der AP aus gereinigter Dünndarmschleimhaut von Kälbern beträgt 105 kDa. Sie ist sensitiv auf

Temperaturen $> 37^{\circ}\text{C}$ und wird durch Mg- und Mn-Ionen stimuliert (CHUDY et al. 1993).

KHATTAB und PFLEIDERER (1976) konnten aus Kälberdünndarm zwei verschiedene Formen intestinaler AP isolieren. Die beiden Isoenzymformen weisen die gleiche katalytische Eigenschaft auf. Daher haben sie wahrscheinlich ein gemeinsames Proteincore mit identischem aktiven Zentrum. Sie werden durch ein Antiserum präzipitiert, auf welches auch die plazentale AP reagiert. Dieses Antiserum kann zur quantitativen Bestimmung der intestinalen AP im Serum oder in anderen Flüssigkeiten genutzt werden.

BESMAN und COLEMAN (1985) wiesen im Kälberdünndarm ebenfalls zwei verschiedene Isoenzymformen nach. Beim adulten Rind fanden sie jedoch nur eine Form. Es kommt also im Verlauf der Gewebereifung zu funktionellen Veränderungen der intestinalen AP. Dies deckt sich mit den Angaben von MIYAZAWA und TOMODA (1991), die eine unterschiedliche elektrophoretische Mobilität der intestinalen Isoenzyme von Feten und erwachsenen Rindern bemerkten.

Aus der Darmschleimhaut von Schweinen hat man ebenfalls zwei verschiedene Isoenzymformen erhalten. Per Polyacrylamid-Elektrophorese wurde nachgewiesen, dass es sich dabei um Dimere handelt, die aus zwei identischen Untereinheiten mit einem Molekulargewicht von je 64 bzw. 61 kDa bestehen (COLBEAU u. MAROUX 1978).

RUDOLPH et al. (1997) wiesen in der Schleimhaut von Duodenum und Caecum von Pferden je drei Isoenzyme mit unterschiedlicher elektrophoretischer Mobilität nach.

Auch bei Ratten wurden drei verschiedene Formen intestinaler AP isoliert, die den verschiedenen Darmabschnitten zugeordnet werden können. Diese unterscheiden sich sowohl in ihren Molekulargewichten und ihrer Struktur als auch in ihren Eigenschaften in Bezug auf Inhibition, Hitzestabilität und pH-Optimum (TARDIVEL et al. 1988, JAPUNDZIC et al. 1997, WADA et al. 2002).

Beim Menschen fanden KOMODA et al. (1981) zwei intestinale Isoenzyme, die sich in ihrer Migrationsgeschwindigkeit unterschieden sowie in ihrer Kohlenhydrat- und Aminosäureausstattung, ihren enzymatischen Eigenschaften und ihrer Halbwertszeit im Blut: Das langsame Isoenzym hatte eine HWZ von 7,5 Stunden und bei dem schnellen Isoenzym betrug die HWZ 1,3 Stunden.

DENG et al. (1992) fanden im menschlichen Duodenum drei verschiedene Isoformen der intestinalen AP. Ein Teil der Enzyme ist von dreilagigen Vesikeln umgeben

(vesikuläre IAP). Der Rest besteht aus hydrophoben IAP-Dimeren und größeren Strukturen, die als „intestinal variant AP“ bezeichnet werden. Die Enzyme erhalten ihre Hydrophobie durch einen Glykosyl-Phosphatidyl-Inositol-Anker. Nach Entfernung des Ankers durch die Phospholipase D in der Duodenalflüssigkeit sind sie hydrophil. Die hydrophile VARIAP-Form wird hauptsächlich aus dem Duodenum in die Gefäße abgegeben. Sie zeigt im Serum die gleichen Enzymcharakteristika wie im Duodenum.

Ähnliches wiesen EHLE et al. (1985) und HOFFMANN-BLUME et al. (1991) im Kälberdünndarm nach. Demnach tragen 80% der intestinalen AP aus der Mucosa des vorderen Dünndarms einen GPI-Anker. Im Chymus nimmt der Anteil der ankertragenden AP vom Pylorus zum Caecum ab. Da der GPI-Anker das Enzym hydrophob macht, findet man im Darmlumen nur zu 20-34% lösliche AP, welche hauptsächlich in distalen Darmabschnitten zu finden ist.

2.7 Diagnostische Bedeutung der Isoenzyme der alkalischen Phosphatase

Diagnostisch wichtige Veränderungen der Gesamtaktivität der AP im Serum resultieren aus einem erhöhten Eintritt von Enzymen in die Zirkulation (MOSS 1987). Durch die Auftrennung der Gesamt-AP in ihre Isoenzyme ist eine eindeutige Organlokalisation von krankhaften Prozessen möglich. Die pathologische Erhöhung eines Isoenzym bringt allerdings nicht automatisch die Erniedrigung eines anderen Isoenzym mit sich. Wichtig ist aber auch, dass sich die Anteile der einzelnen Isoenzyme verändern können, ohne dass die Gesamtaktivität pathologische Abweichungen aufweist (KHATTAB 1976, MÖSSNER 1981, ANTONOV et al. 1983). Die Isoenzymdiagnostik ermöglicht es, Stoffwechselstörungen vor dem Auftreten von Schädigungen zu erkennen, also bevor zelluläre Strukturveränderungen zu klinisch relevanten Symptomen führen (GRAUBAUM 1977).

Bei Rindern mit verschiedenen Lebererkrankungen, wie chronischer Fasziolose, Hepatitis oder degenerativer Leberverfettung, kommt es im Falle einer diffusen Läsion des Parenchyms zu einem Aktivitätsanstieg der Gesamt-AP. Diese wird durch eine Aktivitätszunahme der Leber-Isoenzyme hervorgerufen, die aus den zerstörten Leberzellen austreten. Gleichzeitig kommt es auch zum Aktivitätsanstieg anderer

leberspezifischer Enzyme (FERMIN u. RODRIGUEZ 1982). Den vermehrten Austritt des Leberisoenzyms aus den Hepatozyten ins Blut und den damit verbundenen Anstieg der Gesamt-AP-Aktivität bestätigt auch eine Studie von ANTONOV und MALCHEVSKI (1980), die bei Schafen mittels Tetrachlormethan eine akute Leberschädigung provozierten. 72 Stunden nach Zuführen des Giftes kam es allerdings zu einem Abfall der AP-Aktivität.

MOSS (1987) schreibt den Anstieg der Leberenzymaktivität und der Gesamtaktivität aber nicht dem Austritt aus zerstörten Zellen zu, sondern einer durch die Erkrankung erhöhten AP-Synthese in den Hepatozyten.

VAN HOOFF et al. (1994) wiesen eine Aktivitätserhöhung der Leberenzyme beim Menschen bei Hepatitis, Zirrhose, primären oder metastatischen Karzinomen und Gallengangsobstruktionen nach.

Bei einer Cholestase kommt es zum Teil durch eine Regurgitation der Gallen-Isoenzyme zu einem Anstieg der AP-Aktivität. Dabei konnten im Serum zwei Hauptisoenzyme identifiziert werden (PRICE u. SAMMONS 1976). VOLEK und STEPAN (1977) stellten aber fest, dass ein Aktivitätsanstieg der Leber-Isoenzyme nicht immer mit einem Aktivitätsanstieg der Gesamt-AP verbunden sein muss.

Zu einer Aktivitätserhöhung des zweiten Leber-Isoenzyms („fast liver“ oder „high-molecular mass“ AP) kommt es bei Cholestasen und malignen Lebererkrankungen oder Lebermetastasen (VAN HOOFF et al. 1994, WOLF 1994).

Hochgradige cholestatische Prozesse können auch zu einer Komplexbildung der Leber-AP mit Lipoproteinen führen, welche dann auch „ultra fast AP“ genannt wird (VAN HOOFF et al. 1994).

Eine erhöhte Osteoblastenaktivität führt bei einer Knochenerkrankung zu vermehrter Bildung des Knochen-Isoenzyms und somit zu einem Anstieg der Gesamtaktivität der AP (KOLB 1955, MOSS 1987). Dabei lässt der Grad der Erhöhung Rückschlüsse auf die Schwere der Erkrankung zu. So findet man z.B. bei Knochensarkomen und Ostitis deformans eine hochgradige Erhöhung, während es bei Wachstumsanomalien, wie Kretinismus, Skorbut und Chondrodystrophie, gelegentlich zu einer Abnahme der AP-Aktivität kommt (KOLB 1955).

Bei an Osteopathie erkrankten Mastbullen stellte HOTTENTROTT (1972) einen erhöhten Anteil der Knochen-AP-Aktivität gegenüber gesunden Bullen fest. PRIBOTH (1978) wies jedoch keine Erhöhung der Gesamtaktivität nach.

Beim Menschen ist eine erhöhte Knochen-AP-Aktivität bei folgenden Krankheiten beschrieben worden: Osteomalazie, Osteosklerose, Myositis ossificans, primärem Hyperparathyreoidismus, primärem Osteosarkom und Knochenmetastasen (VAN HOOFF et al. 1994).

Zu einer physiologischen Aktivitätserhöhung des Knochen-Isoenzyms und auch der Gesamt-Aktivität der AP kommt es während des Wachstums (KOLB 1975, FERMIN u. RODRIGUEZ 1982, ANTONOV u. MALCHEVSKI 1983). Es liegt eine positive Korrelation zwischen der Wachstumsrate von Kälbern und der AP-Aktivität vor (BÁRDOS und BUCHHOLCZ 1986).

Zur frühzeitigen Diagnose von Leber- und Knochenmetastasen bei malignen Erkrankungen werden in der Humanmedizin die Aktivitätsmuster von Leber- und Knochen-Isoenzymen genutzt. Mit Hilfe der Knochen-AP-Aktivität kann man auch zwischen malignen Metastasen und benignen Knochenerkrankungen unterscheiden. Diese Unterscheidung ist mit der Leber-AP-Aktivität nicht möglich. Zum Ausschluss von Leber- und Knochenmetastasen eignet sich aber die Untersuchung der AP-Gesamtaktivität besser als die der Isoenzyme (VAN HOOFF et al. 1992).

Bei malignen Erkrankungen kommt es auch zum Auftreten von abnormalen Isoenzymen, welche Reexpressionen der genetisch distinkten AP-Isoenzyme darstellen. Das Regan- und Nagao-Isoenzym entstehen aus plazentaler AP und treten auf bei malignen Erkrankungen von Lunge, Gastrointestinaltrakt, Uterus, Ovarien, Hoden und bei Rauchern. Das Kasahara-Isoenzym ist die Reexpression eines fetalen intestinalen AP-Gens und ist bei Lebertumoren im Serum zu finden (MOSS 1987, VAN HOOFF et al. 1994).

Kälber und Ferkel mit Diarrhoe weisen eine signifikante Verringerung der AP-Aktivität im Darmkanal auf. Der Grund hierfür ist wahrscheinlich eine nachhaltige Beeinträchtigung der Verdauungsprozesse, an denen die in den Mikrovilli und in den Enterozyten sitzende intestinale AP vermutlich beteiligt ist (KRAUTZIG et al. 1986). Bei einer leichten Durchfallerkrankung kommt es nur zu geringen Aktivitätsveränderungen verglichen mit einer schweren Diarrhoe (KWIATKOWSKI 1964). Im Blutserum fanden LEWIS et al. (1975) jedoch keine Veränderung der AP-Aktivität vor. FRERKING et al. (1984) führen die bei an Durchfall erkrankten Kälbern

auftretende Aktivitätserhöhung im Serum auf Parenchymschäden der Leber zurück und somit auf einen Aktivitätsanstieg des Leber-Isoenzym.

Bei Kaninchen und Hamstern mit Enteritis wurden im Duodenum, Jejunum und Ileum niedrigere intestinale AP-Aktivitäten gefunden als bei gesunden Tieren (ANDREWS 1975, TOOFANIAN 1985). KUHLE et al. (1990) wiesen bei Menschen mit Duodenitis und Duodenalulcera einen AP-Verlust in Enterozyten nach. In metaplastischen Zellen war keine AP-Aktivität mehr vorhanden. Somit kann die intestinale AP-Aktivität ein frühzeitiger Marker für eine sich entwickelnde Metaplasie der Enterozyten oder zumindest für eine Zellzerstörung sein.

GRAEBER et al. (1984), KAZMIERCZAK et al. (1988) und MCLACHLAN et al. (1993) verglichen Parameterveränderungen im Serum bei Dünndarmnekrosen bei Hunden, Ratten und Menschen und stellten fest, dass es zu einer Abgabe von intestinaler AP in die Zirkulation kommt. Die Serum-CK-Aktivität stieg allerdings schneller und hochgradiger an als die AP-Aktivität. CK-BB scheint ein besserer Marker für Dünndarmnekrosen zu sein als die intestinale AP. Beim Vergleich von Mesenterialgefäßverschlüssen mit Darmverschlüssen zeigten folgende Parameter Veränderungen: die Harnstoffkonzentration stieg bei beiden Erkrankungen an, die Pi-Konzentration beim Infarkt und die Aktivitäten von ASAT, ALAT, CK und AP zeigten beim Gefäßverschluss einen stärkeren Anstieg als bei Darmverlegungen.

MIURA et al. (1982) beobachteten die Veränderungen der Aktivität des intestinalen Isoenzym nach oraler Gabe von Cholera-Toxin an Ratten: in den ersten drei Stunden kam es zu einem Aktivitätsabfall, danach zu einem Anstieg mit einem Aktivitätsmaximum acht Stunden post infectionem.

Beim Menschen sind bei aktivem Morbus Crohn und bei ulcerativer Colitis keine Veränderungen des intestinalen Isoenzym festgestellt worden (DOMAR et al. 1988). Zu einer physiologischen Aktivitätserhöhung des intestinalen Isoenzym sowohl im Darmlumen als auch im Serum kommt es nach Aufnahme fett- sowie proteinreicher Nahrung (TUBA u. ROBINSON 1953, STEPAN et al. 1976, MIURA et al. 1989). Generell kommt es zu einer Erhöhung der Gesamtaktivität bei Fütterung verglichen mit der Aktivität im Fastenzustand, die auf einen Aktivitätsanstieg des intestinalen Isoenzym zurückzuführen ist (UNAKAMI et al. 1989).

Ferner zeigt sich beim Menschen eine Erhöhung des intestinalen Isoenzym bei Leberzirrhose, chronischem Nierenversagen und Diabetes mellitus. Die Darm-AP ist

ein Asialoglykoprotein, welches beim gesunden Menschen vom hepatischen Asialoglykoproteinrezeptor gereinigt wird. Bei einer Schädigung der Leber durch oben genannte Krankheiten wird auch zu der Rezeptor geschädigt. Dies führt zu einem Aktivitätsanstieg der intestinalen AP im Serum (VAN HOOFF et al. 1994, WOLF 1994). Bei intrahepatischen Veränderungen, vor allem bei Zirrhose und Ikterus, tritt in 45% der Fälle ein Anstieg der Aktivität des intestinalen Isoenzym auf. Bei extrahepatischen Veränderungen ist dies nicht beobachtet worden (WARNES et al. 1977). DOMAR et al. (1988) wiesen bei einer Zirrhose einen stark erhöhte Aktivität der intestinalen AP nach, während sich die Aktivität des Leber-Isoenzym nur wenig veränderte. Bei einer primär biliären Zirrhose zeigte sich allerdings eine hochgradige Aktivitätssteigerung des Leber-Isoenzym und die Aktivität des intestinalen Isoenzym reagierte nur geringgradig.

Bei der humanen familiären Hyperphosphatämie intestinalen Ursprungs zeigt sich eine starke Aktivitätserhöhung der Darm-Isoenzyme. Der Anteil der hydrophilen und der hydrophoben intestinalen Isoenzyme macht hier mehr als 50% der Gesamtaktivität aus (CARRASCOSA et al. 1995).

Eine metabolische Azidose führt bei Rindern zu einem Aktivitätsabfall der AP (FÜRLI et al. 1993). Laut ANTONOV et al. (1983) beruht dieser auf einer Aktivitätsabnahme des intestinalen Isoenzym. FICHTNER und SEFFNER (1980) aber beschreiben die Aktivitätsverminderung als Folge der durch die azidotische Stoffwechsellaage hervorgerufenen Hypophosphatämie, welche wiederum zu einer verminderten Osteoblastentätigkeit und somit zu einer geringeren Aktivität des Knochen-Isoenzym führt.

An Leukose erkrankte Rinder zeigen im Serum keine signifikante Erhöhung der AP-Aktivität. Ein Aktivitätsanstieg ist lediglich im Gewebe von Milz und Lymphknoten und bei der tumorösen Leukoseform auch im Leberparenchym festzustellen (ANTONOV u. LALOV 1978).

Katzen mit Hypothyreose zeigen eine erhöhte Serum-AP-Aktivität. Die Isoenzyme aus Leber, Knochen und aus einem unidentifizierten Gewebe tragen hier zu dem Aktivitätsanstieg bei (HORNEY et al. 1994).

Bei einer Gravidität kommt es zu einer physiologischen Erhöhung der Gesamt-AP-Aktivität, die auf eine Isoenzymbildung in der Plazenta zurückzuführen ist. Das plazentale Isoenzym ist außerdem erhöht bei Ovarien-, Pankreas- und Magenkrebs und wird beim Menschen bei starken Rauchern aus der Lunge freigesetzt (VAN HOOFF et al. 1994). Zu einer pathologischen Aktivitätserhöhung der Plazenta-AP während der Schwangerschaft bei Frauen kommt es bei Komplikationen wie Eklampsie, Hypertension und Pre-Eklampsie, wobei hohe Aktivitäten den drohenden Abort ankündigen (MOSS 1982).

Eine Komplexbildung der AP mit Immunglobulinen wird vor allem bei älteren Menschen und bei einer ulcerativen Colitis beobachtet (VAN HOOFF et al. 1994).

3 Tiere, Material, Methoden

3.1 Tiere

3.1.1 Untersuchungen an gesunden Tieren

Zur Ermittlung von Richtwerten der Isoenzyme der alkalischen Phosphatase ist eine gesunde Kontrollgruppe gebildet worden. Diese setzt sich zusammen aus 25 schwarzbunten Milchrindern, die aus einem Milchproduktionsbetrieb in der näheren Umgebung von Leipzig stammen. In dem Betrieb werden ca. 400 Milchkühe in Laufställen mit Vollspaltenboden gehalten. Die durchschnittliche Jahresleistung beträgt 10000 Liter Milch pro Kuh.

Es wurden nur Tiere in die Untersuchung einbezogen, die klinisch gesund waren und die sich zum Zeitpunkt der Blutentnahme im Laktationsstadium vier Wochen p.p. befanden. Die Kühe waren zwischen 2 und 6 Jahren alt.

3.1.2 Untersuchungen an Patienten der Medizinischen Tierklinik Leipzig

Bei den 81 in die Untersuchungen einbezogenen Patienten der Medizinischen Tierklinik handelt es sich um schwarzbunte Kühe, die in den Jahren 2002 und 2003 stationär in der Klinik behandelt worden sind.

Aus den zugehörigen Krankenblättern sind 69 Kühe selektiert worden, die während ihres Klinikaufenthaltes eine Diarrhoe zeigten. Sie wurden entsprechend ihrer jeweiligen Primärerkrankung in 6 Gruppen eingeteilt (Tabelle 2-7, 4.1), bzw. im Falle der Gruppe 3 konnte keine Grunderkrankung eruiert werden und es wurde die Verdachtsdiagnose einer Enteritis gestellt:

- 1.) Labmagenverlagerung nach links (n=28)
- 2.) Labmagenverlagerung nach rechts (n=20)
- 3.) Enteritis (n=5)
- 4.) Dünndarmileus (Strangulationsileus) (n=4)
- 5.) Labmagenulcera (n=5)
- 6.) Endometritis / Mastitis (n=7).

Eine weitere Gruppe bilden 20 Patienten mit einer Leberfunktionsstörung (Tabelle 11, 4.2). 11 Kühe dieser Gruppe sind schon in der Gruppe „LMV li“ oder „LMV re“ untersucht worden. Zusätzlich zur Labmagenverlagerung wiesen sie eine Leberfunktionsstörung auf und passten somit in das Schema beider Gruppen. Es zeigte sich, dass die Aktivität der intestinalen AP auf Grund einer weniger stark ausgeprägten Diarrhoe bei diesen Patienten nicht erhöht war. Bei den euthanasierten bzw. verstorbenen Kühen wurde im Rahmen der pathologisch-anatomischen Untersuchung eine hochgradige degenerative Leberverfettung nachgewiesen. Diese Störung wird bei den geheilten Tieren aufgrund der Symptomatik, des Erkrankungszeitpunktes und der klinisch-chemischen Blutuntersuchung auch vermutet.

Damit im Serum keine plazentale AP vorhanden ist, befinden sich in dieser Gruppe nur Kühe, die nicht tragend sind und sich im Laktationsstadium mindestens 2 Wochen p.p. befinden. 13 der 20 Kühe sind geheilt aus der Klinik entlassen worden, die Restlichen sind entweder euthanasiert worden oder verstorben.

Zusätzlich wurde eine Gruppe bestehend aus 12 Rindern gebildet, die eine AP-Aktivität ≥ 300 U/l zeigten. Bis auf 3 Tiere setzt sich diese aus den Patienten mit Diarrhoe und denjenigen mit Leberbelastung zusammen (Tabelle 13, 4.3).

3.2 Material

3.2.1 Probengewinnung bei der Kontrollgruppe

Die Blutproben wurden am fixierten Tier aus der Vena jugularis externa mit Einmalkanülen (Firma B. Braun, Melsungen) entnommen. Für die Bestimmung der Leukozytenzahl wurde das Blut in einem handelsüblichen Plastikgefäß mit EDTA (Firma Kabe Labortechnik GmbH, Nümbrecht) aufgefangen und für die übrigen Parameter in einem Serumröhrchen ohne Antikoagulans (Firma Sarstedt Labortechnik GmbH, Nümbrecht). Das Blutserum wurde spätestens 2 Stunden nach der Blutentnahme abzentrifugiert und anschließend bei -18°C in Eppendorfgefäßen (Firma Heiland Vet GmbH, Hamburg) tiefgefroren. Die Analyse der Serumproben erfolgte innerhalb der folgenden 4 Wochen.

3.2.2 Blutproben von Patienten der Medizinischen Tierklinik

Hierbei handelt es sich um Blutproben, die den unter Punkt 3.1.2 beschriebenen Patientengruppen während des stationären Aufenthaltes entnommen worden sind. Nach Blutentnahme wurden die Proben abzentrifugiert und bei -18°C in Eppendorfgläsern tiefgefroren.

Pro Tier wurde mindestens eine Serumprobe untersucht. Bei insgesamt 34 Patienten wurden zwei bis drei Proben im Krankheitsverlauf analysiert.

Dabei wurden für Verlaufsuntersuchungen jeweils 2 Blutproben pro Patient herangezogen. Die erste Probe wurde am Tag der Aufnahme in die Klinik bzw. kurz danach entnommen. Die zweite Probe stammt vom geheilten Tier bzw. wurde kurz vor der Euthanasie bzw. kurz vor dem Versterben genommen.

Insgesamt (gesunde Kühe und Patienten) sind 150 Blutproben untersucht worden.

3.3 Methoden

3.3.1 Klinisch-chemische Blutuntersuchung

Im Labor der Medizinischen Tierklinik erfolgte für alle Blutseren die Bestimmung folgender klinisch-chemischer Parameter mit dem Analyseautomaten Hitachi 704 (Firma Boehringer, Mannheim) bei einer Temperatur von 37°C . Tabelle 1 gibt eine Übersicht der ermittelten Laborparameter und der Nachweismethodik.

Tabellle 1: Darstellung der klinisch-chemischen Parameter, deren Bestimmungsmethoden und dafür verwendete Geräte sowie Referenzbereiche der Parameter (Medizinische Tierklinik Leipzig, Universität Leipzig)

Parameter / Einheit / Material			Methode		VKS %	VKT %	Referenzbereich
AP	U/l	S	p-Nitrophenylphosphat	3	0,64	1,66	50-200*
GLDH	U/l	S	UV-Test, optimierte Standardmethode der DGKC	1	1,9	2,3	< 30
ASAT	U/l	S	optimierte Standard-Methode der DGKC	1	1,0	2,0	< 80
ALAT	U/l	S	optimierte Standard-Methode der DGKC	1			<50
GGT	U/l	S	Methode nach Szasz	1	0,91	3,37	< 50
Bilirubin	µmol/l	S	Methode nach Jendrassik u. Grof	2	2,5	3,3	< 5
Protein	g/l	S	Biuret-Methode	1	1,2	1,9	60-80
Harnstoff	mmol/l	S	Kinetischer UV-Test	1	2,8	3,5	2,5-5,0
BHB	mmol/l	S	UV-Methode	2			< 0,6
Cholesterol	mmol/l	S	CHOD-PAP-Methode	1	1,8	2,8	> 2,5
Ca	mmol/l	S	mit o-Kresolphthalein	1			2,3-2,8
Pi	mmol/l	S	Molybdat-Reaktion	1			1,55-2,29

1 = Firma BOEHRINGER MANNHEIM

2 = Firma RANDOX

3 = NAC aktivierte optimierte Standardmethode der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie

* = PETZOLD 2002

Material: S = Serum, V = Vollblut, H = Harn

VKS % = Variationskoeffizient in der Serie in %

VKT % = Variationskoeffizient von Tag zu Tag in %

Die ALAT-Aktivität wurde nur bei der gesunden Kontrollgruppe sowie bei den 20 Patienten mit Leberbelastung bestimmt.

Die Leukozytenzahl wurde mit einem Zellcounter der Firma Technicon ermittelt.

3.3.2 Elektrophoretische Auftrennung der Isoenzyme der alkalischen Phosphatase im Blutserum

Hierzu wurde das kommerzielle Testkit HYDRAGEL ISO-PAL K20 der Firma Sebia, Fulda, genutzt. Die Reproduzierbarkeit innerhalb eines Geles (Intra Assay) und zwischen Gelen (Inter Assay) wurde durch Berechnung von Mittelwerten, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten durch die Herstellerfirma getestet. Außerdem wurde in einer Vergleichsstudie die Übereinstimmung mit einem anderen Testsystem zur Ermittlung der AP-Isoenzyme untersucht. Des Weiteren wurden Sensitivität und Linearität überprüft.

Bei diesem Verfahren handelt es sich um einen humanmedizinischen Test. Der Vergleich der elektrophoretischen Migrationseigenschaften von Rinderserum mit denen von Humanserum im Vorversuch zeigte jedoch, dass diese übereinstimmen. Somit kann dieser Test auch erfolgreich im veterinärmedizinischen Bereich eingesetzt werden.

Mit Hilfe des Kits werden die Isoenzyme der AP im Blutserum identifiziert und quantifiziert. Hochaktive Seren mit einer AP-Aktivität >600 U/l müssen mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt werden, um ein auswertbares Ergebnis zu erhalten.

Die Auftrennung der Isoenzyme erfolgt auf einem gebrauchsfertigen Agarosegel in einem alkalischen Puffer (pH 9,1). Die Herstellung des Puffers erfolgt nach Anleitung des Herstellers durch Mischen einer 100 ml Flasche mit 1 l Aqua dest.. Der gebrauchsfertige Puffer enthält 5,75 g/l Tris, 1,47 g/l Barbitol, 8,24 g/l Na-Barbitol und 0,10 g/l Na-Azid.

Es werden pro Durchführung der Elektrophorese 2 Applikatoren mit je 7 Zähnen benötigt. Auf den ersten Applikator werden 10 µl jeder Serumprobe auf je zwei benachbarte Vertiefungen aufgetragen. In der siebenten Spur wird eine humane Kontrollprobe mitlaufen gelassen. Auf den zweiten Applikator werden in jede zweite Vertiefung je 10 µl einer Weizenkeimlektinlösung aufgetragen.

Dieses Vorgehen ist notwendig, da in der nativen Spur eine Komplexbildung des Leber-1- und des Knochen-Isoenzym stattfindet, welche eine quantitative Auswertung dieser Isoenzyme unmöglich macht. In der Lektinspur wird diese

Komplexbildung verhindert, da das Lektin auf Grund seiner hohen Affinität zu Sialinsäuren das Knochen-Isoenzym nahe des Auftragungspunktes ausfällt. Die restlichen Isoenzyme, mit Ausnahme des intestinalen Isoenzym, werden nur geringfügig verlangsamt.

Die beiden beladenen Applikatoren werden 15 Minuten mit dem Agarosegel in Kontakt gebracht, so dass das Serum und das Lektin in das Gel hineindiffundieren. Anschließend wird das Gel mit den Proben zur kathodischen Seite in die mit 300 ml Puffer gefüllte Elektrophoresekammer überführt (150 ml Puffer pro Kammerseite). Die Elektrophorese wird über 45 Minuten bei einer Spannung von 120 V durchgeführt.

Nach Ablauf der Migrationszeit wird das Gel aus der Kammer entfernt und 2,5 ml der ISO-PAL-Substratlösung werden aufgetragen. Diese Lösung setzt sich zusammen aus 0,5 ml Nitroblau-Tetrazolin enthaltendem Chromogen und 2,0 ml gebrauchsfertigem Substrat, welches 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolylphosphat in einem Aminomethyl-Propanol-Puffer (pH 10,0) enthält. Das mit dem Farbstoff bedeckte Gel wird nun in einem Inkubationstrockner für 60 Minuten inkubiert. Für die ersten 30 Minuten ist eine Temperatur von 37°C vorgesehen und für die zweiten 30 Minuten von 51°C. Es hat sich aber in Vorversuchen gezeigt, dass die Anfärbung der AP-Isoenzymbanden besser gelingt, wenn man die Temperatur während der zweiten 30 Minuten auf ca. 70°C erhöht.

Im Anschluss an die Inkubation wird die verbliebene Substratlösung mit einer Pipette entfernt und ein dickes Filterpapier für 3 Minuten auf das Gel aufgelegt.

Darauf folgt die Entfärbung des Gels. Die Entfärbelösung wird hergestellt, indem 300 µl der Stammlösung mit 300 ml Aqua dest. vermischt werden. Nach der Verdünnung enthält die Arbeitsentfärbelösung 50 mg/dl Citronensäure. Laut Hersteller soll das Gel für 10 Minuten in die Lösung eingetaucht werden. Wiederum haben aber Vorversuche gezeigt, dass eine Entfärbedauer von nur ca. 5 Minuten in einer deutlicheren Anfärbung der AP-Isoenzymbanden resultiert.

Abschließend folgt die Trocknung des Gels bei ca. 70°C im Inkubationstrockner.

3.3.3 Interpretation und Auswertung der Migrationsmuster der Elektrophoresegele

Das fertige Gel zeigt folgende Laufspuren (Abb. 1):

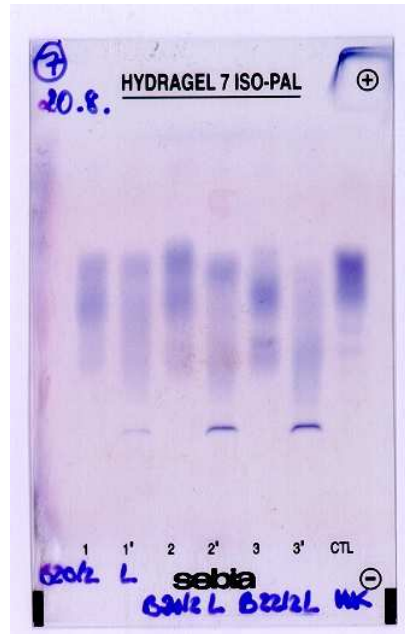


Abbildung 1: Elektrophoresegel nach Anfärbung und Inkubation mit Nitroblau-Tetrazolin: Rinderserum in den Laufspuren 1 bis 3', humanes Kontrollserum in Laufspur CTL

Es ist zu erkennen, dass Human- und Rinderserum weitgehend ähnliche Migrationseigenschaften aufweisen (Abb. 1).

Die verschiedenen Fraktionen können wie folgt den verschiedenen Isoenzymen zugeteilt werden (Abb. 2):

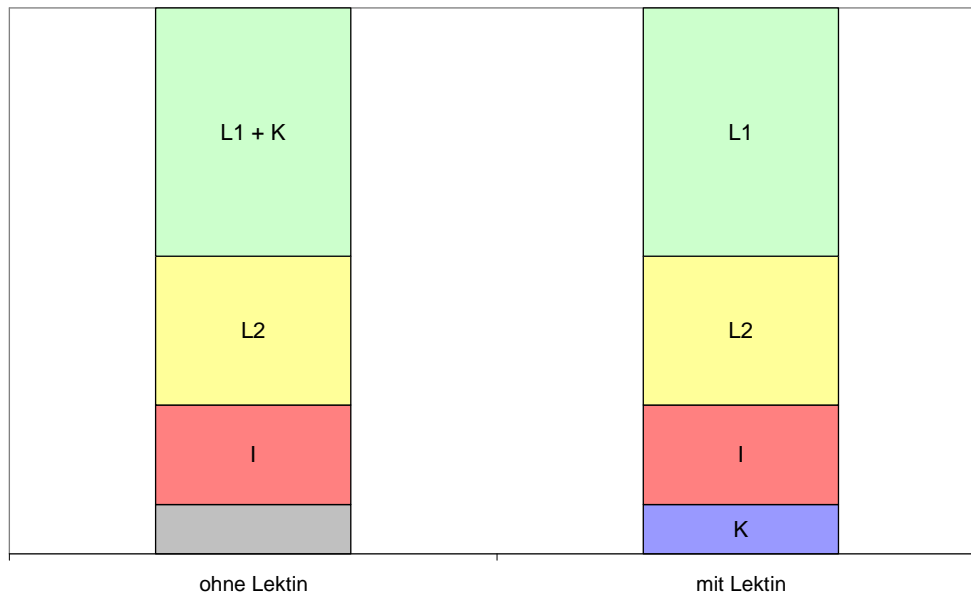


Abbildung 2: Migrationsmuster der AP-Isoenzyme nach elektrophoretischer Auftrennung im Serum: links, ohne Lektin, fällt eine Komplexbildung von L1 und K auf, rechts, mit Lektin, wird K nahe des Auftragungspunktes ausgefällt.

L1 + K: Komplex Leber-1- und Knochen-Isoenzym

L1: Leber-1-Isoenzym

K: Knochen-Isoenzym

L2: Leber-2-Isoenzym

I: intestinales Isoenzym

P: plazentales Isoenzym

Die Knochenfraktion bildet normalerweise eine einzelne fokussierte Fraktion nahe der Auftragungsstelle auf der Lektinspur. Bei Überschreiten der Bindungskapazität des Lektins kann jedoch zusätzlich ein anodischer Schmier auftreten als Konsequenz einer unvollständigen Präzipitation. Dies kommt bei einer sehr starken Erhöhung des Knochen-Isoenzym vor, wie z.B. bei Knochenkrebs oder aktivem Knochenstoffwechsel.

Die densitometrische Auswertung erfolgt mit dem „Preference Sebia“ (Firma Sebia, Issy-les-Moulineaux, Frankreich) bei 570 nm. Die Peaks der erhaltenen Kurve können entsprechend dem Migrationsmuster wiederum den verschiedenen Isoenzymen zugeteilt werden (Abb. 3, links).

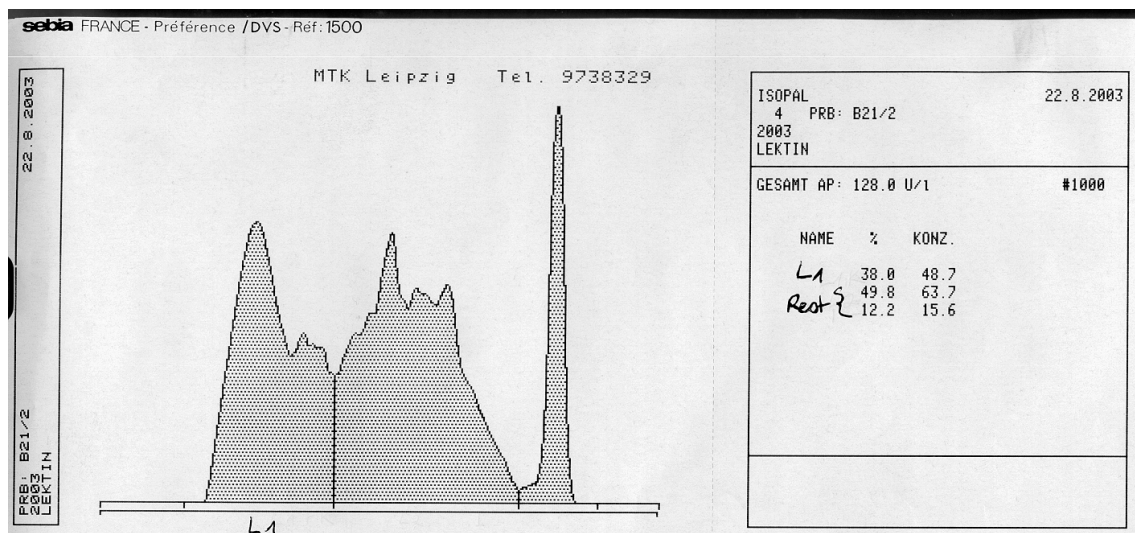
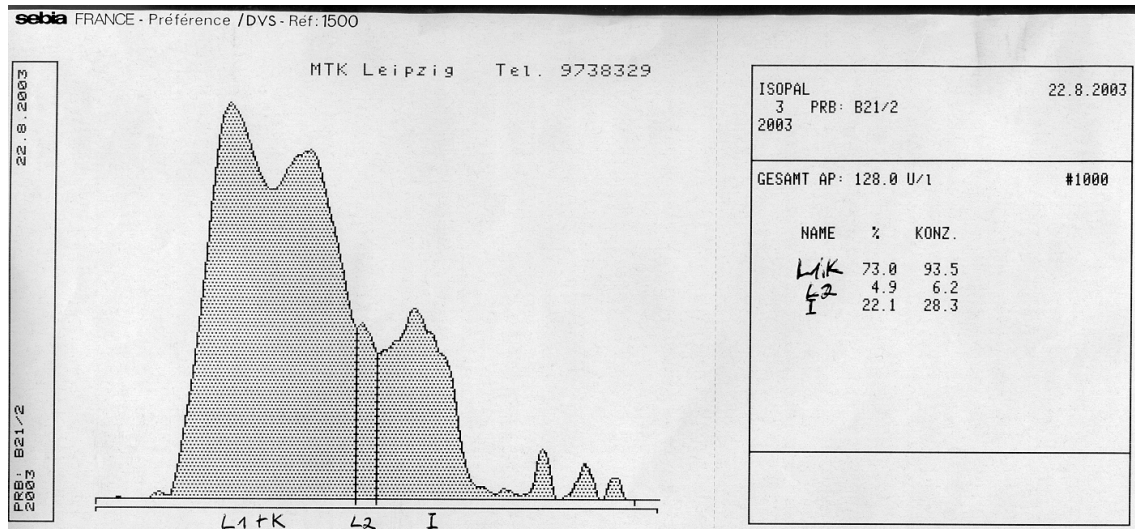


Abbildung 3: Graphische Darstellung und Auswertung einer Laufspur ohne Lektin (oben) und mit Lektin (unten). Ohne Lektin wird der L1-K-Komplex, L2 und I dargestellt. Nach Auftragen von Lektin wird K ausgefällt, was dem Peak rechts auf der unteren Laufspur entspricht, und L1 wird isoliert dargestellt.

Die Aktivitätsanteile der verschiedenen Isoenzyme an der Gesamt-AP-Aktivität werden angegeben (Abb. 3, rechts). Die Werte für das intestinale und das Leber-2-Isoenzym entnimmt man der Laufspur ohne Lektin, während der Wert für das Leber-1-Isoenzym aus der Lektinspur abgelesen wird. Der Anteil der Knochen-AP an der Gesamt-AP wird nach folgender Formel errechnet: $K = (L1+K) - L1$. Der Wert (L1+K) wird der Laufspur ohne Lektin entnommen.

Bei trächtigen Kühen sowie bei Kühen < 2 Wochen p.p., wobei es hier individuelle Unterschiede gibt, tritt zusätzlich das plazentale Isoenzym in Erscheinung. Dieses bildet einen Komplex mit dem Leber-2-Isoenzym. Folglich kann bei diesen Kühen L2 nicht ausgewertet werden. Auch L1 ist als nicht auswertbar anzusehen, da der erhöhte relative Anteil des L2-P-Komplexes an der Gesamt-AP den L1-Wert verfälscht.

3.4 Statistische Auswertung

Die vorliegenden Ergebnisse wurden mit dem Statistikprogramm SPSS 11.5.1 statistisch bearbeitet.

Die Prüfung auf Normalverteilung der Werte wurde mit dem SHAPIRO-WILK-Test durchgeführt. Als statistische Lageparameter wurden der arithmetische Mittelwert, die Standardabweichung, der Medianwert, das 1. und 3. Quartil sowie das Minimum und Maximum berechnet.

Zur statistischen Signifikanzprüfung kam die ANOVA, der Homogenitätstest nach LEVENE, und als post hoc Tests der DUNNETT-T3 –Test bzw. der STUDENT-NEWMAN-KEULS-Test zur Anwendung.

Vergleiche zwischen den Entnahmen erfolgten mit dem gepaarten t-Test. Verteilungsunabhängige Prüfverfahren wurden bei Nichtnormalverteilung angewendet.

Hier wurde mit dem H-Test nach KRUSKAL-WALLIS, einer nichtparametrischen Alternative zur einfaktoriellen Varianzanalyse, geprüft, ob mehrere unabhängige Variable aus der gleichen Grundgesamtheit stammen. Bei signifikantem H-Test wurde der U-TEST nach MANN-WHITNEY durchgeführt.

Vergleiche zwischen den Entnahmen bei vorliegender Nichtnormalverteilung erfolgten mit dem WILCOXON-Test.

Die Stärke des Zusammenhangs zwischen den Variablen wurde mit der Berechnung der Korrelationskoeffizienten nach Pearson durchgeführt.

4 Ergebnisse

Bei den Kühen mit Diarrhoe wurden verschiedene Gruppeneinteilungen vorgenommen und diese mit der Gruppe der gesunden Kühe verglichen:

1. Einteilung in die Gruppen „krank“ und „Rekonvaleszenz“ (4.1.1)
2. Einteilung in die Krankheitskomplexe „LMV li“, „LMV re“ und „akute Entzündungen“ (4.1.2)
3. Einteilung in die einzelnen Erkrankungen „LMV li“, „LMV re“, „Enteritis“, „Ileus“, „Labmagenulcera“ und „Endometritis / Mastitis“ (4.1.3).

Im Folgenden wurden die Kühe mit Leberfunktionsstörung (4.2) und mit einer AP-Aktivität ≥ 300 U/l (4.3) näher betrachtet. Zum Abschluss wurden bei den oben genannten Krankheitskomplexen Vergleichsuntersuchungen zwischen der ersten Blutprobe nach Aufnahme in die Klinik und der letzten Blutprobe vor der Entlassung durchgeführt (4.4).

4.1 Untersuchungen an Kühen mit Diarrhoe

Kühe, die während ihres stationären Aufenthaltes Diarrhoe zeigten, wurden in 6 Gruppen entsprechend der zu Grunde liegenden Erkrankung zusammengefasst: 28 Rinder mit LMV li, 20 Rinder mit LMV re, 5 Rinder mit Enteritis, 4 Rinder mit Dünndarmileus, 5 Rinder mit Labmagenulcera und 7 Rinder mit Endometritis / Mastitis. Nähere Angaben zu den Patienten sind den Tabellen 2-7 zu entnehmen.

Ergebnisse

Tabelle 2: Kühe mit LMV li: Angaben zum Alter, Laktationsstadium, Dauer und Ergebnis des Klinikaufenthaltes, Datumsangaben der Blutentnahmen

Kliniknr.	Alter	Laktationsstadium	Klinikaufenthalt	Ergebnis	Blutproben
64/02	4 Jahre	? p.p.	2.-6.2.02	geheilt	4.2.
121/02	3,5 Jahre	7 Wo. p.p.	5.-7.3.02	geheilt	5.3.
133/02	?	3 Wo. p.p.	11.-14.3.02	geheilt	11.3.
135/02	5,5 Jahre	3 Wo. p.p.	12.-15.3.02	geheilt	13.3.
215/02	4,5 Jahre	6 d p.p.	15.-19.4.02	geheilt	16.4., 18.4.
225/02	4 Jahre	11 d p.p.	22.-25.4.02	geheilt	23.4., 24.4.
264/02	2,5 Jahre	5 Wo. p.p.	3.-11.5.02	geheilt	6.5., 8.5., 10.5.
282/02	6,5 Jahre	? p.p.	14.-17.5.02	geheilt	15.5., 16.5.
303/02	4,5 Jahre	6 Wo. p.p.	22.-28.5.02	geheilt	22.5., 27.5.
308/02	3,5 Jahre	3 Wo. p.p.	25.-28.5.02	geheilt	27.5., 28.5.
317/02	2,5 Jahre	? p.p.	29.5.-3.6.02	geheilt	31.5.
329/02	7,5 Jahre	? p.p.	10.-12.6.02	geheilt	10.6., 11.6.
343/02	8 Jahre	3 Wo. p.p.	17.-18.6.02	Ex. let.	18.6.
348/02	3,5 Jahre	11 Wo. p.p.	18.-24.6.02	geheilt	19.6., 20.6., 24.6.
349/02	7,5 Jahre	2 Wo. p.p.	18.-24.6.02	geheilt	19.6.
358/02	Nicht bekannt	3. Wo. trächtig	23.-26.6.02	geheilt	24.6.
392/02	4 Jahre	? p.p.	8.-11.7.02	geheilt	10.7.
427/02	3 Jahre	? p.p.	26.7.-2.8.02	geheilt	29.7.
495/02	5,5 Jahre	17 d p.p.	10.-19.9.02	geheilt	11.9., 16.9.
507/02	4 Jahre	7 Wo. p.p.	17.-20.9.02	geheilt	17.9.
510/02	2,5 Jahre	5. Mo. trächtig	19.-25.9.02	geheilt	20.9.
523/02	4 Jahre	4 Wo. p.p.	26.-30.9.02	geheilt	27.9.
527/02	2,5 Jahre	2 Wo. p.p.	29.9.-2.10.02	geheilt	30.9.
620/02	3,5 Jahre	5 d p.p.	22.-25.11.02	geheilt	22.11.
636/02	3,5 Jahre	2 Wo. p.p.	5.-10.12.02	geheilt	9.12.
642/02	4,5 Jahre	5 d p.p.	9.-13.12.02	geheilt	10.12., 11.12., 12.12.
659/02	4 Jahre	1 Wo. p.p.	17.-23.12.02	geheilt	18.12., 19.12.
671/02	5,5 Jahre	4. Mo. trächtig	25.-27.12.02	geheilt	27.12.

Ergebnisse

Tabelle 3: Kühe mit LMV re: Angaben zum Alter, Laktationsstadium, Dauer und Ergebnis des Klinikaufenthaltes, Datumsangaben der Blutentnahmen

Kliniknr.	Alter	Laktationsstadium	Klinikaufenthalt	Ergebnis	Blutproben
78/02	4 Jahre	9 d p.p.	7.-14.2.02	geheilt	8.2.
110/02	2 Jahre	4 Wo. p.p.	27.-28.2.02	Ex. let.	27.2.
124/02	3 Jahre	9 Wo. p.p.	6.-12.3.02	geheilt	8.3.
126/02	Nicht bekannt	? p.p.	7.-14.3.02	geheilt	8.3.
144/02	4,5 Jahre	10 d p.p.	18.3.-3.4.02	geheilt	21.3., 25.3.
241/02	6,5 Jahre	17 d p.p.	24.-29.4.02	geheilt	24.4.
262/02	Nicht bekannt	? p.p.	2.-6.5.02	geheilt	3.5.
263/02	4,5 Jahre	9 d p.p.	2.-7.5.02	geheilt	3.5.
271/02	4 Jahre	?	7.-20.5.02	Ex. let.	8.5., 10.5.
316/02	3 Jahre	? p.p.	28.-31.5.02	geheilt	29.5.
404/02	3,5 Jahre	? p.p.	13.-16.7.02	geheilt	15.7.
414/02	5 Jahre	7. Wo. trächtig	16.-19.7.02	geheilt	16.7., 17.7.
422/02	3,5 Jahre	2 Wo. p.p.	24.-29.7.02	geheilt	25.7., 26.7.
478/02	6 Jahre	6. Mo. trächtig, Abort am 5.9.	2.-13.9.02	geheilt	3.9., 9.9.
483/02	3 Jahre	3 Wo. p.p.	4.-19.9.02	Ex. let.	9.9., 16.9.
512/02	3 Jahre	3 Wo. p.p.	21.-25.9.02	Ex. let.	23.9.
515/02	4,5 Jahre	5 Wo. p.p.	23.-26.9.02	geheilt	24.9.
618/02	3,5 Jahre	4 Wo. p.p.	21.-24.11.02	Ex. let.	22.11.
654/02	4 Jahre	? p.p.	13.-18.12.02	geheilt	16.12.
660/02	6,5 Jahre	4 Wo. p.p.	18.-23.12.02	geheilt	18.12., 19.12.

Tabelle 4: Kühe mit Enteritis: Angaben zum Alter, Laktationsstadium, Dauer und Ergebnis des Klinikaufenthaltes, Datumsangaben der Blutentnahmen

Kliniknr.	Alter	Laktationsstadium	Klinikaufenthalt	Ergebnis	Blutproben
116/02	7 Jahre	8 Wo. p.p.	3.-5.3.02	geheilt	4.3.
309/02	3,5 Jahre	?	26.-29.5.02	geheilt	27.5.
562/02	3,5 Jahre	? p.p.	19.-28.10.02	Ex. let.	21.10., 25.10.
662/02	3,5 Jahre	3 Mo. p.p.	19.-23.12.02	geheilt	19.12.
275/03	4 Jahre	? p.p.	24.-25.7.03	Ex. let.	25.7.

Tabelle 5: Kühe mit Strangulationsileus: Angaben zum Alter, Laktationsstadium, Dauer und Ergebnis des Klinikaufenthaltes, Datumsangaben der Blutentnahmen

Kliniknr.	Alter	Laktationsstadium	Klinikaufenthalt	Ergebnis	Blutproben
23/02	7 Jahre	2,5 Mo. p.p.	12.-16.1.02	Ex. let.	14.1.
152/02	4 Jahre	8 d p.p.	20.-23.3.02	geheilt	21.3., 22.3.
177/02	2,5 Jahre	2 Wo. p.p.	2.-4.4.02	Ex. let.	3.4.
643/02	1 Jahr	Charolaisbulle	9.-29.12.02	Ex. let.	11.12., 19.12., 27.12.

Tabelle 6: Kühe mit Labmagenulcera: Angaben zum Alter, Laktationsstadium, Dauer und Ergebnis des Klinikaufenthaltes, Datumsangaben der Blutentnahmen

Kliniknr.	Alter	Laktationsstadium	Klinikaufenthalt	Ergebnis	Blutproben
421/02	2,5 Jahre	5. Wo. trächtig	24.-29.7.02	geheilt	24.7.
426/02	4 Jahre	9 Wo. p.p.	26.-30.7.02	geheilt	26.7., 30.7.
519/02	6 Jahre	4 d p.p.	25.9.-10.10.02	geheilt	26.9., 27.9.
553/02	5,5 Jahre	9 Wo. p.p.	14.-16.10.02	Ex. let.	14.10., 15.10.
270/03	3,5 Jahre	1 Wo. p.p.	19.-23.7.03	Ex. let.	21.7.

Tabelle 7: Kühe mit Endometritis / Mastitis: Angaben zum Alter, Laktationsstadium, Dauer und Ergebnis des Klinikaufenthaltes, Datumsangaben der Blutentnahmen

Kliniknr.	Alter	Laktationsstadium	Klinikaufenthalt	Ergebnis	Blutproben
252/02	5 Jahre	4 Wo. p.p.	29.4.-7.5.02	Ex. let.	30.4.
293/02	6 Jahre	2 Mo. p.p.	16.-22.5.02	geheilt	17.5.
307/02	7,5 Jahre	? p.p.	25.-31.5.02	Ex. let.	28.5.
555/02	5 Jahre	? p.p.	14.-23.10.02	Geheilt	16.10., 21.10.
571/02	5 Jahre	Mutterkuh, Kalb abgesetzt	22.-28.10.02	geheilt	23.10.
252/02	5 Jahre	4 Wo. p.p.	29.4.-7.5.02	Ex. let.	30.4.
293/02	6 Jahre	2 Mo. p.p.	16.-22.5.02	geheilt	17.5.

4.1.1 Untersuchungen zum Zeitpunkt der Erkrankung und der Rekonvaleszenz

Es wurden Beziehungen zwischen den gesunden Kühen sowie den kranken und rekonvaleszenten Patienten mit Diarrhoe hergestellt. Die Kühe wurden für diese Untersuchungen nicht in die oben genannten Gruppen eingeteilt. „Rekonvaleszenz“ bedeutet, dass es sich um eine kurz vor der Entlassung aus der Klinik entnommene Blutprobe handelt, d.h. zu einem Zeitpunkt, als der Patient keine Diarrhoe mehr zeigte.

Aus Tabelle 15 (Anhang) sind die ermittelten statistischen Lageparameter und die statistisch gesicherten signifikanten Unterschiede mit $p \leq 0,05$ ersichtlich.

Die Aktivitäten des intestinalen AP-Isoenzym werden in Abbildung 4 graphisch dargestellt.

Für die AP-Isoenzyme ergeben sich zwei signifikante Differenzen: Das Knochen-AP-Isoenzym ist niedriger (Tab. 15) und das intestinale AP-Isoenzym höher bei den an Diarrhoe erkrankten Patienten als bei den gesunden Rindern (Tab. 15, Abb. 4).

Die Enzyme GLDH, ASAT und GGT zeigen bei den gesunden Kühen signifikant niedrigere Aktivitäten als bei den beiden anderen Gruppen (Tab. 1, Anhang).

Für das Bilirubin ergibt sich bei der gesunden Kontrollgruppe eine signifikant niedrigere Konzentration, während die Konzentrationen von Gesamteiweiß, Cholesterol (Abb. 5) und Ca bei den gesunden Kühen signifikant höher sind als bei den rekonvaleszenten und kranken Kühen (Tab. 15).

Die Harnstoffkonzentration steigt bei den erkrankten Tieren an im Vergleich zu den anderen Gruppen (Tab. 15).

Die BHB-Konzentrationen sind bei den Gesunden und den Kranken signifikant höher als bei der Rekonvaleszenz-Gruppe (Tab. 15).

Pi zeigt bei den Gesunden eine höhere Konzentration als bei den anderen Gruppen (Tab. 15).

Die beschriebenen statistisch gesicherten Unterschiede für die Gesamteiweiß- und Pi-Konzentrationen liegen innerhalb des Referenzbereiches und sind somit als nicht relevant anzusehen. Dasselbe gilt für die Differenzen der BHB-Konzentrationen zwischen gesunden und rekonvaleszenten Kühen.

Ergebnisse

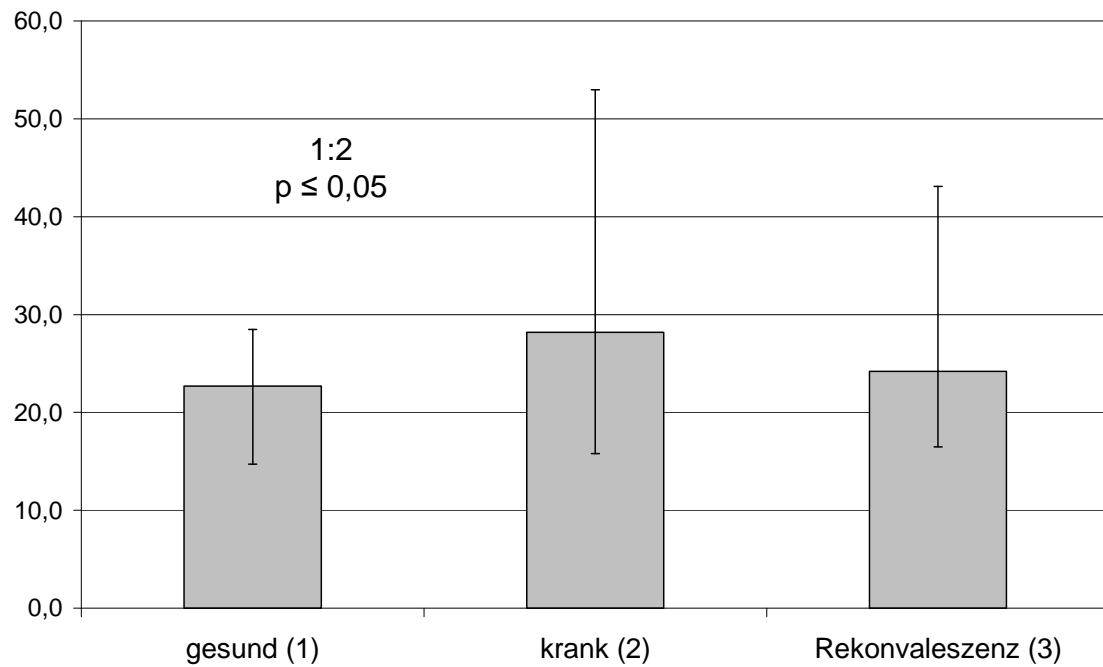


Abbildung 4: Aktivität des intestinalen AP-Isoenzyms (U/l) bei gesunden, kranken und rekonvaleszenten Kühen (Medianwerte, 1. und 3. Quartile)

Ergebnisse

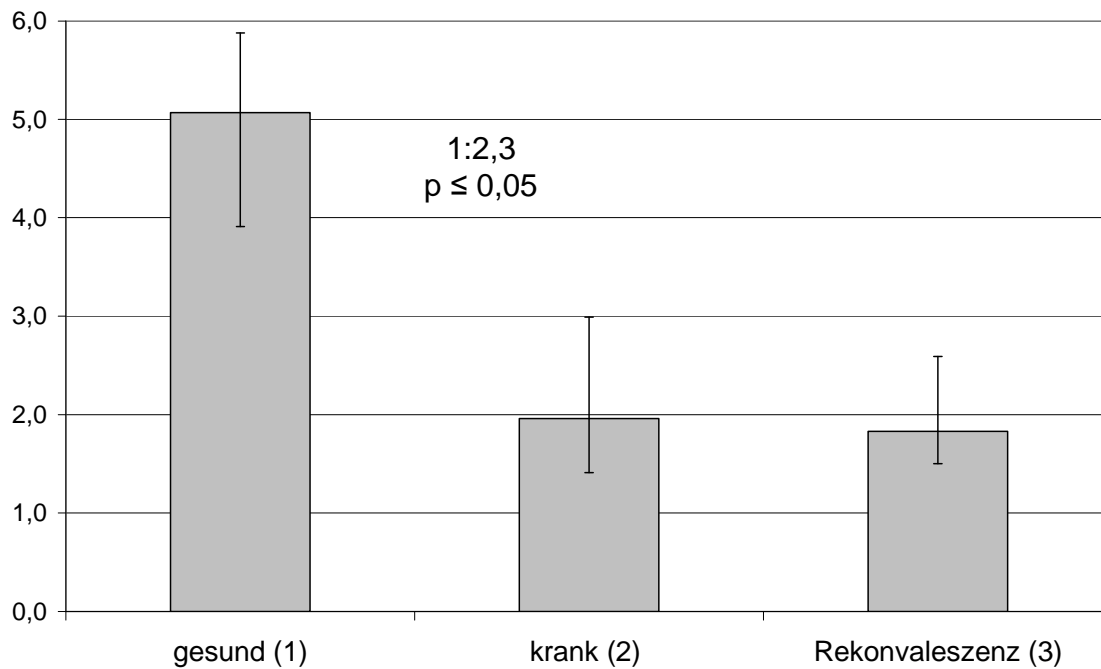


Abbildung 5: Cholesterolkonzentrationen (mmol/l) bei gesunden, kranken und rekonvaleszenten Kühen (Medianwerte, 1. und 3. Quartile)

Statistisch gesicherte Korrelationen mit $p < 0,01$ sind Tabelle 8 zu entnehmen:

Bei allen drei Gruppen treten bei den Aktivitäten der Enzyme GLDH, ASAT und GGT verschiedene positive Korrelationen untereinander auf.

Tabelle 8: Korrelationskoeffizient r ($p < 0,01$) bei gesunden, kranken und rekonvaleszenten Rindern mit Diarrhoe

Parameter	gesund	krank	Rekonvaleszenz
GLDH / ASAT			0,701
GLDH / GGT	0,726	0,547	0,666

4.1.2 Untersuchungen der in Gruppen unterteilten Krankheitskomplexe

Hier wurde eine andere Einteilung der Patienten mit Diarrhoe als unter 4.1.1 vorgenommen: Die Erkrankungen Enteritis, Ileus, Labmagenulcera und Endometritis / Mastitis wurden als akute Entzündungen zusammengefasst und mit den Komplexen LMV li, LMV re und Gesund verglichen.

Die statistischen Maßzahlen und die statistisch gesicherten Differenzen mit $p \leq 0,05$ sind Tabelle 16 (Anhang) zu entnehmen.

In Abbildung 5 wird die Aktivität des intestinalen AP-Isoenzyms für die verschiedenen Komplexgruppen graphisch dargestellt.

Bei den Anteilen der AP-Isoenzyme an der Gesamtaktivität sind sich ausgleichende Verhältnisse zu beobachten, so dass es nicht zu einer signifikanten Aktivitätserhöhung der Gesamt-AP kommt (Tab. 16). Auch für die Aktivitäten der Leber-Isoenzyme (Tab. 16) und des intestinalen Isoenzyms (Tab. 16, Abb. 6) ergeben sich keine signifikanten Differenzen, wenn auch bei den Komplexen „akute Entzündungen“ und „LMV re“ weitaus höhere Aktivitäten zu verzeichnen sind als bei den Gesunden oder Patienten mit LMV li. Nur die Knochen-Isoenzym-Aktivität zeigt wirklich signifikante Unterschiede (Tab. 10).

Die Aktivität der Enzyme GLDH, ASAT und GGT steigt im Allgemeinen bei Erkrankung an (Tab. 16):

Die GLDH zeigt bei den an LMV li und LMV re erkrankten Kühen eine erhöhte Aktivität und Patienten mit einer akuten Entzündung weisen eine signifikant niedrigere Aktivität auf als solche mit einer LMV re. Die ASAT-Aktivität ist bei den Gesunden signifikant niedriger als bei den anderen Gruppen und die GGT zeigt bei den LMV re-Patienten die höchste Aktivität.

Auch die Konzentration von Bilirubin, Harnstoff, BHB, Cholesterol und Ca zeigt abhängig vom Krankheitsbild Unterschiede (Tab. 16):

Bilirubin und Harnstoff zeigen bei den gesunden Kühen die niedrigste Konzentration. Der statistisch gesicherte Unterschied für die Harnstoffkonzentrationen zwischen Gesunden und LMV li-Patienten liegt jedoch innerhalb des Referenzbereichs.

Außerdem ist die Harnstoffkonzentration bei den an LMV li erkrankten Kühen signifikant niedriger als bei den Kühen mit LMV re und akuten Entzündungen.

Bei den Kühen mit LMV li steigt die BHB-Konzentration signifikant an verglichen mit akuten Entzündungen.

Cholesterol (Abb. 7) zeigt bei den Gesunden eine signifikant höhere Konzentration als bei LMV li und re. Die Ca-Konzentration im Blut fällt im Vergleich zu den gesunden Kühen bei LMV re und akuten Entzündungen ab.

Weitere statistisch gesicherte Differenzen innerhalb der Referenzbereiche existieren für Gesamteiweiß und Pi (Tab. 16): die Konzentration von Gesamteiweiß ist bei den Gesunden und den Kühen mit LMV li höher als bei Patienten mit LMV re. Pi hat bei einer LMV li eine niedrigere Konzentration als bei einer LMV re.

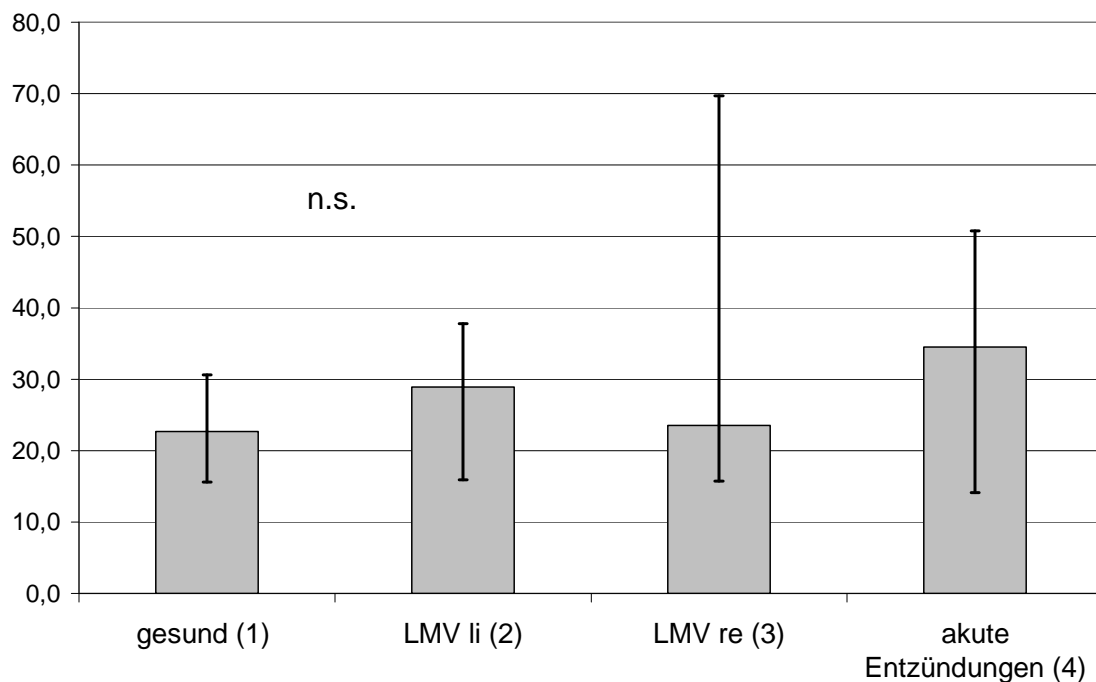


Abbildung 6: Aktivität des intestinalen AP-Isoenzyms (U/l) bei gesunden Kühen und Kühen mit LMV li, LMV re und akuten Entzündungen (Medianwerte, 1. und 3. Quartile)

Ergebnisse

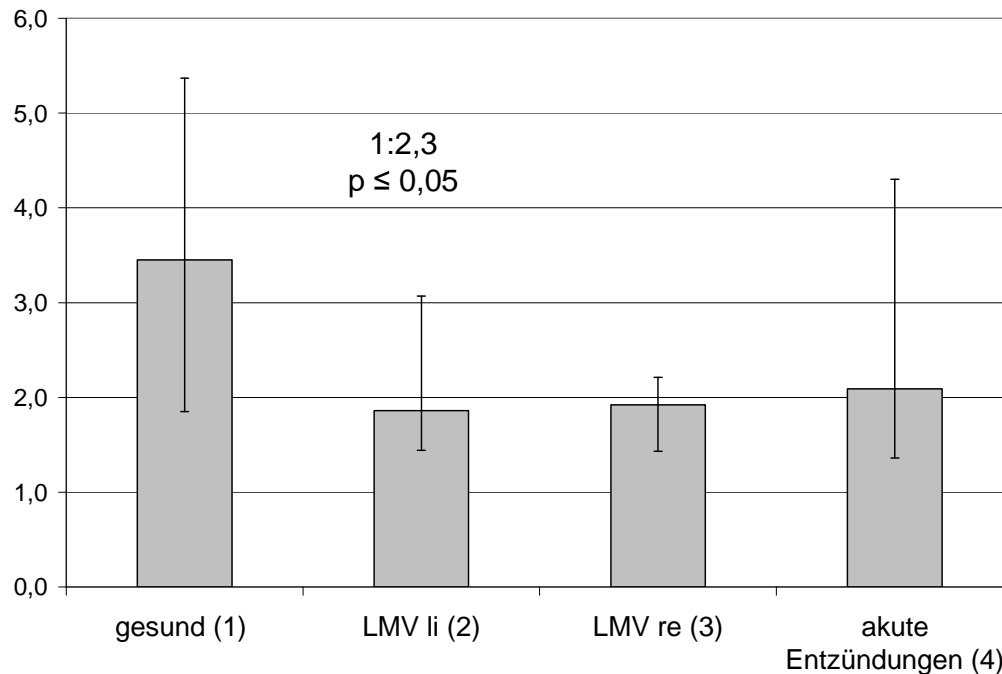


Abbildung 7: Cholesterolkonzentrationen (mmol/l) bei gesunden Kühen und Kühen mit LMV li, LMV re und akuten Entzündungen (Medianwerte, 1. und 3. Quartile)

In Tabelle 9 sind die statistisch gesicherten Korrelationen dargestellt ($p < 0,01$).

Bei den Patienten mit LMV li und LMV re bestehen verschiedene Beziehungen zwischen den Aktivitäten der Enzyme AP, GLDH, ASAT und GGT. Bei den Tieren mit akuten Entzündungen korrelieren die Aktivitäten der intestinalen AP und der Gesamt-AP mit der Leukozytenzahl, die AP-Aktivität mit der ASAT-Aktivität und die GGT-Aktivität mit der Bilirubinkonzentration.

Tabelle 9: Korrelationskoeffizient r ($p < 0,01$) bei gesunden Rindern sowie Rindern mit LMV li, LMV re und akuten Entzündungen

Parameter	gesund	LMV li	LMV re	Akute Entzündungen
intestinale AP / Leukozyten				0,523
AP / GLDH		0,507		
AP / ASAT				0,651
AP / Leukozyten				0,539
GLDH / ASAT		0,506		
GLDH / GGT		0,707	0,825	
GGT / Bilirubin				0,721

4.1.3 Untersuchungen der einzelnen Erkrankungen

Hier erfolgte die Einteilung der Patienten mit Diarrhoe in die sechs Erkrankungen LMV li, LMV re, Enteritis, Ileus, Labmagenulcera und Endometritis / Mastitis.

In Tabelle 17 (Anhang) sind die statistischen Lageparameter und die signifikanten Unterschiede mit $p \leq 0,05$ dokumentiert.

In Abbildung 6 wird die Aktivität des intestinalen AP-Isoenzyms für die verschiedenen Krankheitsbilder graphisch dargestellt.

Für die AP-Isoenzyme ergibt sich wie auch bei den Komplexgruppen ein Ausgleich zwischen den anteiligen Aktivitäten der verschiedenen Isoenzyme, so dass es zu keinem signifikanten Aktivitätsanstieg der Gesamt-AP kommt (Tab. 17). Bezüglich der Aktivität des Leber-1-Isoenzyms gibt es keine statistisch gesicherten Differenzen (Tab. 17). Bei den Leber-2- und Knochen-AP-Aktivitäten ergeben sich diverse signifikante Unterschiede (Tab. 17). Die intestinale AP zeigt bei den Patienten mit einem Ileus eine signifikant höhere Aktivität als bei gesunden Kühen (Tab. 17, Abb. 8).

Bei verschiedenen Erkrankungen zeigt sich wiederum ein Aktivitätsanstieg der Enzyme GLDH, ASAT und GGT. Dies gilt vor allem für Patienten mit LMV li und LMV re (Tab. 17):

Die GLDH zeigt bei den Gesunden und den Ileuspatienten eine niedrigere Aktivität als bei den Kühen mit LMV li und LMV re und bei den Kühen mit Endometritis / Mastitis eine niedrigere Aktivität als bei LMV re. Die ASAT-Aktivität ist bei den gesunden Tieren signifikant niedriger als bei den an LMV li, LMV re und Endometritis / Mastitis erkrankten Kühen. Die GGT-Aktivität ist bei den Patienten mit LMV re signifikant höher als bei den Gesunden und den Patienten mit LMV li, Enteritis oder Endometritis / Mastitis.

Für die Konzentrationen von Bilirubin, Harnstoff, BHB, Cholesterol und Ca ergeben sich folgende statistisch gesicherte Differenzen (Tab. 17):

Die gesunden Kühe zeigen signifikant niedrigere Bilirubinkonzentrationen als die an LMV li, LMV re, Ileus oder Endometritis / Mastitis erkrankten Kühe. Bei den Patienten mit LMV li ist die Bilirubinkonzentration außerdem höher als bei denen mit Labmagenulcera.

Die Harnstoffkonzentration steigt bei Kühen mit LMV li, LMV re, Enteritis, Ileus und Labmagenulcera gegenüber den Gesunden an, wobei der Unterschied zwischen Gesunden und LMV li, wie auch bei den Komplexgruppen unter 4.1.2 beschrieben, im Referenzbereich liegt.

Die BHB-Konzentration ist bei Kühen mit Ileus niedriger als bei Kühen mit Enteritis und LMV li. Es bestehen auch signifikante Unterschiede zwischen Ileus, Gesunden und Endometritis / Mastitis, jedoch innerhalb des Referenzbereiches.

Die Cholesterol-Konzentration (Abb. 9) fällt bei den Kühen mit LMV li, LMV re und Ileus ab verglichen mit den Gesunden.

Die Ca-Konzentration ist bei den gesunden Kühen höher als bei Patienten mit LMV re und Ileus.

Folgende signifikante Unterschiede innerhalb des Referenzbereiches wurden außerdem ermittelt (Tab. 17):

Die Gesamteiweißkonzentration ist bei den Gesunden und bei Kühen mit LMV li und mit Endometritis / Mastitis höher als bei Kühen mit Ileus und bei LMV re niedriger als bei LMV li und Endometritis / Mastitis.

Die Pi-Konzentration ist bei LMV li signifikant niedriger als bei LMV re.

Ergebnisse

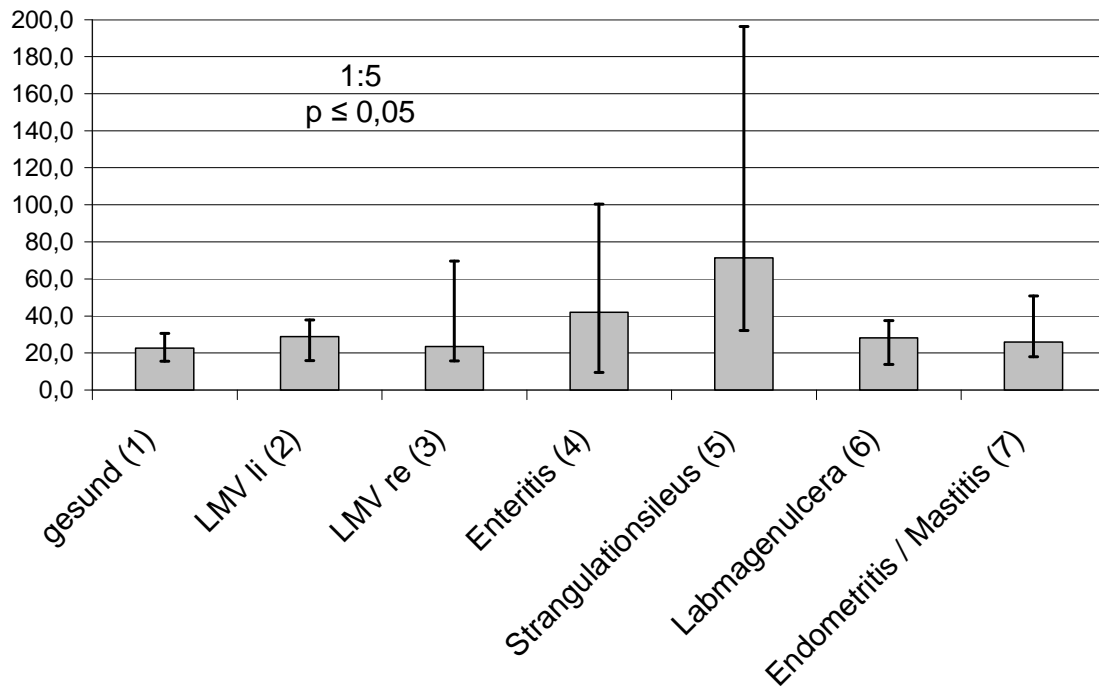


Abbildung 8: Aktivität des intestinalen AP-Isoenzyms (U/l) bei gesunden Kühen und Kühen mit LMV li, LMV re, Enteritis, Strangulationsileus, Labmagenulcera und Endometritis / Mastitis (Medianwerte, 1. und 3. Quartile)

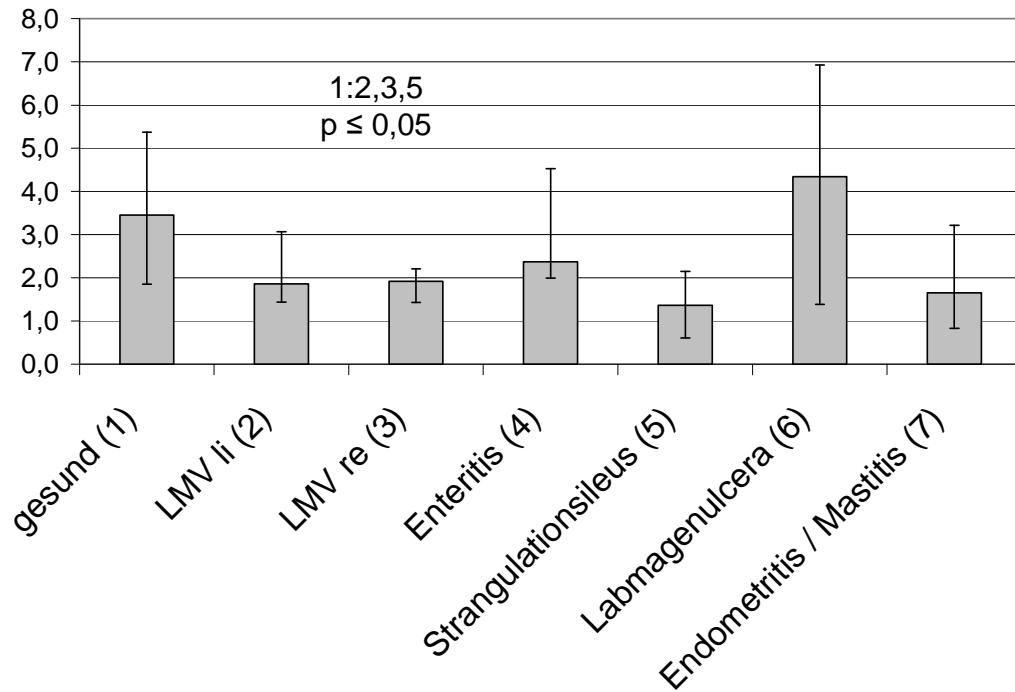


Abbildung 9: Cholesterolkonzentrationen (mmol/l) bei gesunden Kühen und Kühen mit LMV li, LMV re, Enteritis, Strangulationsileus, Labmagenulcera und Endometritis / Mastitis (Medianwerte, 1. und 3. Quartile)

In Tabelle 10 befinden sich die statistisch gesicherten Korrelationen ($p < 0,01$) für die Erkrankungen:

Zwischen den Aktivitäten der Enzyme AP, GLDH, ASAT und GGT bestehen Beziehungen bei den Gesunden und den Patienten mit LMV li, LMV re, Ileus und Labmagenulcera.

Tabelle 10: Korrelationskoeffizient r ($p < 0,01$) bei gesunden Rindern und Rindern mit LMV li, LMV re, Enteritis, Strangulationsileus, Labmagenulcera und Endometritis / Mastitis

Parameter	Gesund	LMV li	LMV re	Enteritis	Ileus	Labmag enulcera	Endome tritis / Mastitis
AP / GLDH		0,507			0,943		
AP / GGT						0,976	
GLDH / ASAT	0,745	0,506			0,989		
GLDH / GGT	0,705	0,707	0,825				

4.2 Untersuchungen an Kühen mit einer Leberfunktionsstörung

Nähere Informationen zu den Rindern mit einer Leberfunktionsstörung finden sich in der folgenden Tabelle.

Tabelle 11: Kühe mit Leberfunktionsstörung: Angaben zum Alter, Laktationsstadium, Dauer und Ergebnis des Klinikaufenthaltes, Datumsangaben der Blutentnahmen

Kliniknr.	Alter	Laktationsstadium	Klinikaufenthalt	Ergebnis	Blutproben
110/02	2 Jahre	4 Wo. p.p.	27.-28.2.02	Ex. let.	27.2.
121/02	3,5 Jahre	7 Wo. p.p.	5.-7.3.02	geheilt	5.3.
126/02	?	? p.p.	7.-14.3.02	geheilt	8.3.
133/02	?	3 Wo. p.p.	11.-14.3.02	geheilt	11.3.
204/02	4,5 Jahre	2 Wo. p.p.	11.-17.4.02	geheilt	12.4., 15.4.
264/02	2,5 Jahre	5 Wo. p.p.	3.-11.5.02	geheilt	6.5., 8.5., 10.5.
282/02	6,5 Jahre	? p.p.	14.-17.5.02	geheilt	15.5., 16.5.
329/02	7,5 Jahre	? p.p.	10.-12.6.02	geheilt	10.6., 11.6.
404/02	3,5 Jahre	? p.p.	13.-16.7.02	geheilt	15.7.
427/02	3,5 Jahre	? p.p.	26.7.-2.8.02	geheilt	29.7.
523/02	4 Jahre	4 Wo. p.p.	26.-30.9.02	geheilt	27.9.
558/02	4 Jahre	7 Wo. p.p.	17.10.-4.11.02	Ex. let.	28.10.
660/02	6,5 Jahre	4 Wo. p.p.	18.-23.12.02	geheilt	18.12., 19.12.
42/03	3,5 Jahre	2 Wo. p.p.	31.1.-4.2.03	geheilt	31.1., 3.2.
53/03	3,5 Jahre	3 Wo. p.p.	6.-11.2.03	Ex. let.	7.2., 10.2.
136/03	2,5 Jahre	4 Wo. p.p.	10.-11.4.03	Ex. let.	10.4.
161/03	4 Jahre	2 Wo. p.p.	01.05.2003	Ex. let.	1.5.
193/03	6 Jahre	4 Wo. p.p.	20.-24.5.03	Ex. let.	21.5., 23.5.
194/03	4 Jahre	4 Wo. p.p.	20.-22.5.03	Ex. let.	21.5.
280/03	1,5 Jahre	Färse	30.7.-4.8.03	geheilt	31.7.

Die 20 untersuchten Patienten mit Leberfunktionsstörungen wurden eingeteilt in die folgenden Gruppen und zueinander und zu den Gesunden in Beziehung gesetzt:

„krank“: Tiere bei der Aufnahmeuntersuchung, die später gesund entlassen werden können,

„Rekonvaleszenz“: Blutproben von der Gruppe „krank“ kurz vor der Entlassung aus der Klinik.

„Exitus letalis“: Kühe, die entweder euthanasiert wurden oder verstorben sind, hier werden Blutproben vom gesamten Klinikaufenthalt berücksichtigt.

Tabelle 18 (Anhang) beschreibt die statistischen Maßzahlen und signifikanten Unterschiede ($p \leq 0,05$) zwischen den verschiedenen Gruppen.

In den Abbildungen 7-9 sind die Medianwerte sowie die 1. und 3. Quartile für die Aktivität des Leber-1-Isoenzym, der Gesamt-AP, GLDH, ASAT, GGT und die Konzentration von Bilirubin und Cholesterol graphisch dargestellt.

Auffallend ist, dass dies die einzige Untersuchung ist, bei der signifikante Veränderungen der Gesamt-AP-Aktivität auftreten: Die Aktivitäten der Gesamt-AP und des Leber-1-Isoenzym sind bei den Tieren mit Exitus letalis signifikant höher als bei den gesunden Kühen (Tab. 18, Abb. 10).

Wie auch bei den an Diarrhoe erkrankten Tieren zeigen die Enzyme GLDH, ASAT und GGT (Tab. 18, Abb. 11) bei den gesunden Kühen eine niedrigere Aktivität als bei den anderen Gruppen. Die ALAT-Aktivität (Tab. 18) ist bei den rekonvaleszenten Kühen signifikant niedriger als bei den anderen Gruppen. Allerdings befinden sich sämtliche ALAT-Aktivitäten innerhalb des Referenzbereiches und somit sind die signifikanten Differenzen als klinisch nicht relevant anzusehen.

Weitere statistisch gesicherte Unterschiede existieren für die Konzentrationen von Bilirubin, Harnstoff, BHB, Cholesterol, Ca und Leukozytenzahlen:

Die Bilirubinkonzentration (Tab. 18, Abb. 12) zeigt bei einer Leberfunktionsstörung wie erwartet einen Anstieg verglichen mit den gesunden Kühen. Gleiches gilt für die Harnstoff- und BHB-Konzentrationen (Tab. 18) beim Vergleich der gesunden Tiere mit den Kranken. Die Harnstoffkonzentration ist auch bei den rekonvaleszenten Kühen signifikant höher als bei den Gesunden, jedoch liegen die

Harnstoffkonzentrationen der rekonvaleszenten Kühe innerhalb des Referenzbereiches.

Die Tiere mit Leberfunktionsstörung mit Rekonvaleszenz und jene mit Exitus letalis zeigen einen Abfall der Cholesterolkonzentration (Tab. 18, Abb. 12) gegenüber den Gesunden. Auch bei den Geheilten liegt die Cholesterolkonzentration zwar signifikant unter dem Wert der Gesunden, aber dennoch innerhalb des Referenzbereiches.

Die Ca-Konzentration (Tab. 18) ist bei den gesunden Kühen höher als bei den rekonvaleszenten Patienten und bei den Kranken. Die rekonvaleszenten Kühe weisen eine signifikant niedrigere Leukozytenzahl (Tab. 18) auf als die gesunden und kranken Kühe.

Eine weitere statistisch gesicherte Differenz mit Konzentrationen innerhalb des Referenzbereiches besteht für Pi (Tab. 18): Es zeigt eine signifikant höhere Konzentration bei den Gesunden als bei allen anderen.

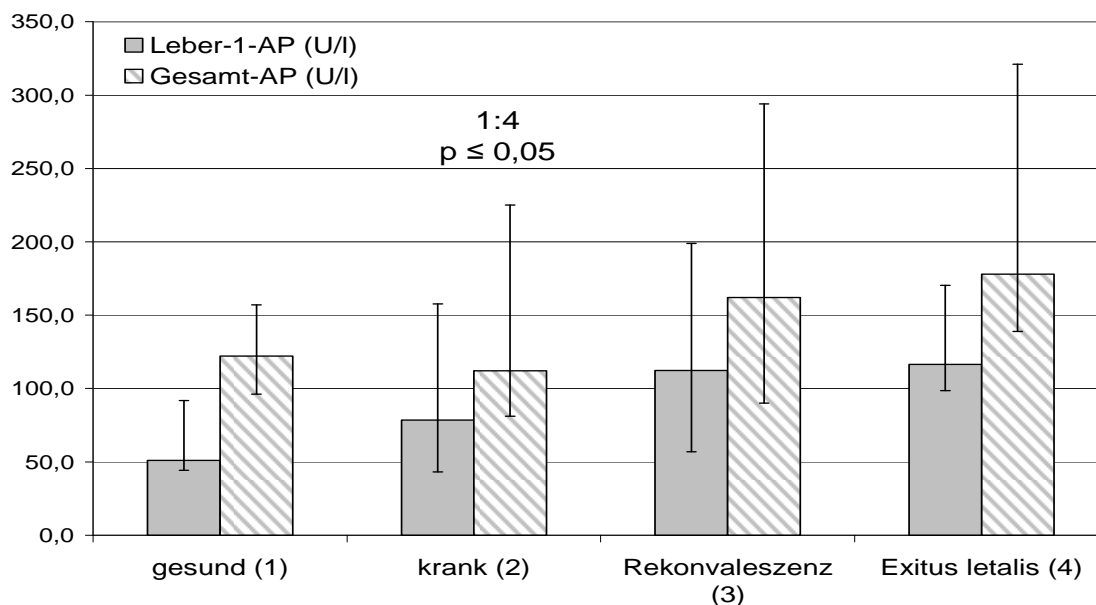


Abbildung 10: Aktivitäten des Leber-1-AP-Isoenzym (U/l) und der Gesamt-AP (U/l) bei gesunden, bei kranken und rekonvaleszenten Kühen mit Leberfunktionsstörung und bei Kühen vor dem Exitus letalis (Medianwerte, 1. und 3. Quartile)

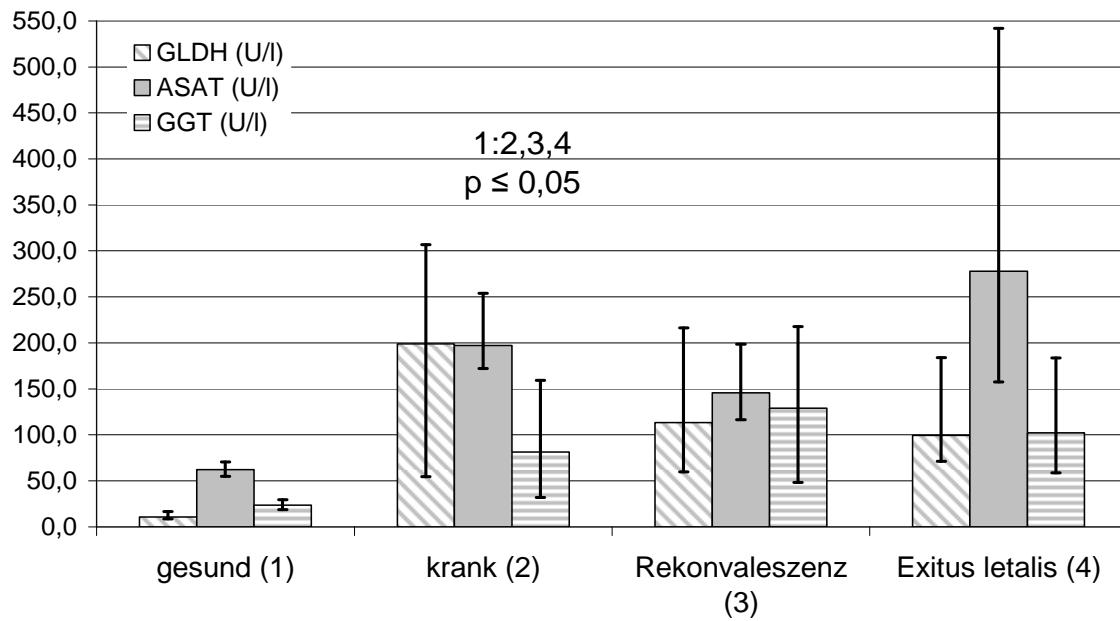


Abbildung 11: Aktivitäten der Enzyme GLDH (U/l), ASAT (U/l) und GGT (U/l) bei gesunden, bei kranken sowie rekonvaleszenten Kühen mit Leberfunktionsstörung und bei Kühen vor dem Exitus letalis (Medianwerte, 1. und 3. Quartile)

Ergebnisse

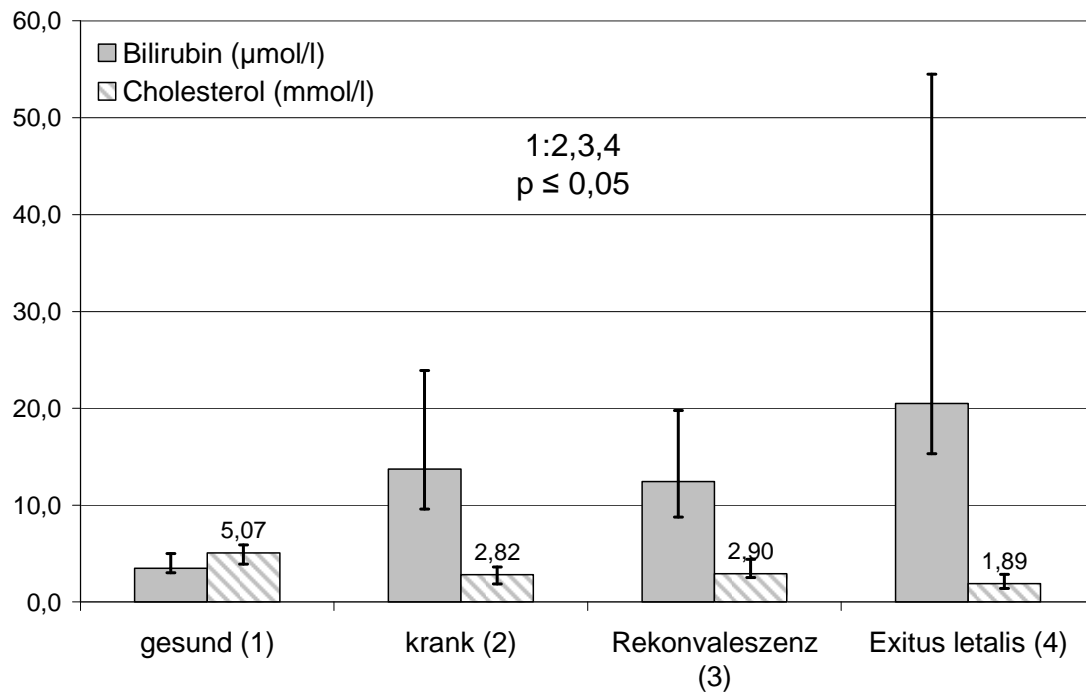


Abbildung 12: Bilirubin- ($\mu\text{mol/l}$) und Cholesterolkonzentrationen (mmol/l) bei gesunden, bei kranken sowie rekonvaleszenten Kühen mit Leberfunktionsstörung und bei Kühen vor dem Exitus letalis (Medianwerte, 1. und 3. Quartile)

Statistisch gesicherte Korrelationen ($p < 0,01$) werden in Tabelle 12 dargestellt:
 Außer bei den Tieren mit Exitus letalis korreliert die Leber-1-AP-Aktivität negativ mit der Knochen-AP-Aktivität. Die Aktivitäten der Enzyme AP, GLDH, ASAT und GGT sowie das Bilirubin zeigen verschiedene positive Beziehungen zueinander, wie es bei Erkrankungen der Leber zu erwarten ist.

Tabelle 12: Korrelationskoeffizient r ($p < 0,01$) bei gesunden Rindern, bei kranken sowie rekonvaleszenten Kühen mit Leberfunktionsstörung und bei Rindern vor dem Exitus letalis

Parameter	gesund	krank	Rekonvaleszenz	Exitus letalis
Leber-1-AP / Knochen-AP	-0,753	-0,826	-0,933	
AP / GLDH				0,965
AP / ASAT		0,673		0,906
AP / GGT		0,931	0,951	0,962
AP / Bilirubin				0,867
GLDH / ASAT				0,836
GLDH / GGT	0,726			0,997
GLDH / Bilirubin				0,907
ASAT / GGT				0,821
GGT / Bilirubin				0,925

4.3 Untersuchungen an Kühen mit einer AP-Aktivität ≥ 300 U/l

Hier werden Patienten mit einer besonders hohen AP-Aktivität ≥ 300 U/l, die sich aus den verschiedenen vorher untersuchten Krankheitsgruppen zusammensetzen, mit den übrigen untersuchten Tieren mit geringerer AP-Aktivität verglichen. In der folgenden Tabelle 13 sind genaue Angaben zu den ausgewählten Rindern zu finden.

Tabelle 13: Kühe mit einer AP-Aktivität ≥ 300 U/l: Angaben zum Alter, Laktationsstadium, Dauer und Ergebnis des Klinikaufenthaltes, Datumsangaben der Blutentnahmen

Klinik-nr.	Alter	Laktationsstadium	Diagnose	Klinik-aufenthalt	Ergebnis	Blutproben	AP (U/l)
78/02	4 Jahre	9 d p.p.	LMV re	7.-14.2.02	geheilt	8.2.	314
177/02	2,5 Jahre	2 Wo. p.p.	Dünndarm-ileus	2.-4.4.02	Ex. let.	3.4.	476
204/02	4,5 Jahre	2 Wo. p.p.	Ketose	11.-17.4.02	geheilt	12.4.	345
						15.4.	535
307/02	7,5 Jahre	? p.p.	Endometritis	25.-31.5.02	Ex. let.	28.5.	336
384/02	3 Jahre	11 d p.p.	Peritonitis	4.-17.7.02	geheilt	11.7.	714
512/02	3 Jahre	3 Wo. p.p.	LMV re	21.-25.9.02	Ex. let.	23.9.	363
643/02	1 Jahr	Bulle	Dünndarm-ileus	9.-29.12.02	Ex. let.	11.12.	309
						27.12.	329
38/03	3,5 Jahre	11 d p.p.	Leberverschattung	29.1.-4.2.03	geheilt	31.1.	594
127/03	5,5 Jahre	? p.p.	Leberverschattung	03.04.2003	Ex. let.	3.4.	1002
161/03	4 Jahre	2 Wo. p.p.	Leberverschattung	01.05.2003	Ex. let.	1.5.	1240
193/03	6 Jahre	4 Wo. p.p.	Leberverschattung	20.-24.5.03	Ex. let.	23.5.	386
275/03	4 Jahre	? p.p.	Enteritis	24.-25.7.03	Ex. let.	25.7.	403

Die statistischen Auswertungen sind in Tabelle 19 (Anhang) dargestellt. Die signifikanten Aktivitätsdifferenzen des Leber-1-Isoenzym und des intestinalen Isoenzym sind in Abbildung 10 graphisch dargestellt.

Folgende statistisch gesicherte Unterschiede ($p \leq 0,05$) wurden ermittelt:

Die Aktivitäten des Leber-1- (Tab. 19, Abb. 13), des Leber-2-Isoenzyms (Tab. 19) und des intestinalen Isoenzyms (Tab. 19, Abb. 13) sind bei der Gruppe AP < 300 U/l signifikant niedriger als bei der Gruppe AP ≥ 300 U/l.

Ansonsten zeigen sich ähnliche Verhältnisse, wie sie bei den Leberfunktionsstörungen beschrieben worden sind (Tab. 19): Die Aktivitäten der Enzyme GLDH, ASAT und GGT steigen zusammen mit einer stark erhöhten AP an, ebenso die Konzentrationen von Bilirubin, Harnstoff und Leukozyten. Die Cholesterolkonzentration hingegen fällt ab bei einer AP-Aktivität ≥ 300 U/l.

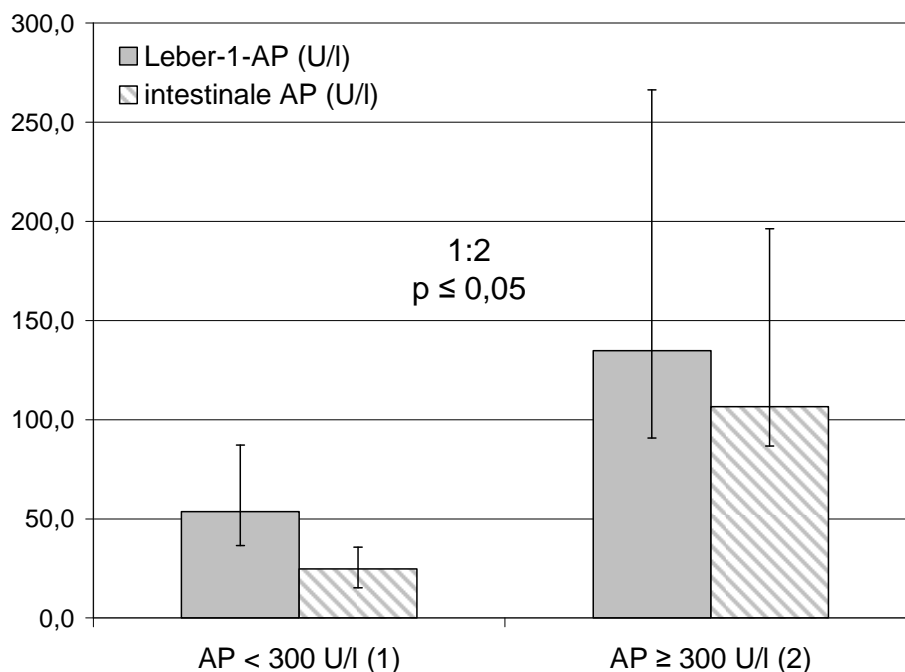


Abbildung 13: Aktivitäten des Leber-1-AP-Isoenzyms (U/l) und der Gesamt-AP (U/l) bei Kühen mit einer AP-Aktivität < 300 U/l und einer AP-Aktivität ≥ 300 U/l (Medianwerte, 1. und 3. Quartile)

Die statistisch gesicherten Korrelationen ($p < 0,01$) in Tabelle 14 zeigen ebenfalls die gleichen Beziehungen, wie sie in den vorherigen Untersuchungen festgestellt worden sind:

So existieren negative Zusammenhänge zwischen der Aktivität der Leber-1-AP und der intestinalen AP-Aktivität und positive Beziehungen zwischen der intestinalen AP-Aktivität und der Leukozytenanzahl. Die Aktivitäten der Enzyme AP, GLDH, ASAT

und GGT und die Bilirubinkonzentration korrelieren in verschiedenen Variationen positiv miteinander.

Tabelle 14: Korrelationskoeffizient r ($p < 0,01$) bei Rindern mit einer AP-Aktivität < 300 U/l und einer AP-Aktivität ≥ 300 U/l

Parameter	AP < 300 U/l	AP ≥ 300 U/l
Leber -1-AP / intestinale AP	-0,669	-0,901
intestinale AP / Leukozyten		0,767
AP / GLDH		0,888
AP / ASAT		0,725
AP / GGT		0,771
AP / Bilirubin		0,753
GLDH / ASAT	0,557	0,821
GLDH / GGT	0,706	0,769
GLDH / Bilirubin		0,901
ASAT / Bilirubin		0,761
GGT / Bilirubin		0,707

4.4 Vergleichende Blutuntersuchungen zu Beginn und am Ende des Klinikaufenthaltes

Bei den Verlaufsuntersuchungen wurden innerhalb der Krankheitskomplexe „LMV li“, „LMV re“, „akute Entzündungen“ und „Leber“ die möglichen Ergebnisse Heilung und Exitus letalis untersucht. Dafür wurden die erste Blutprobe nach Aufnahme in die Klinik und die letzte Blutprobe vor Entlassung bzw. Exitus letalis analysiert.

Die statistischen Lageparameter und die signifikanten Differenzen ($p \leq 0,05$) sind den Tabellen 20 – 26 (Anhang) zu entnehmen.

Folgende statistisch gesicherte Unterschiede wurden ermittelt:

Bei LMV li mit dem Ergebnis Heilung sind die Werte für BHB- und Ca-Konzentration bei der Entlassung aus der Klinik signifikant niedriger als bei der Aufnahme (Tab. 20). Die Ca-Konzentrationen liegen jedoch sowohl bei der ersten als auch bei der zweiten Blutentnahme unterhalb des Referenzbereiches.

Bei LMV re mit dem Ergebnis Heilung verändert sich als einziger Parameter die Harnstoffkonzentration zwischen Aufnahme und Entlassung (Tab. 21). Sie sinkt in diesem Zeitraum.

Die Kühe mit einer Leberbelastung und dem Ergebnis Heilung zeigen bei der Entlassung eine niedrigere Gesamteiweiß-, Harnstoff- und Cholesterolkonzentration als bei der Aufnahme (Tab. 25). Die erhöhten Gesamteiweiß- und Cholesterolkonzentrationen bei der Aufnahme lagen jedoch nur geringgradig über dem Referenzbereich.

Bei den Untersuchungen von LMV re und Leberfunktionsstörungen mit dem Ausgang Exitus letalis und von akuten Entzündungen sowohl mit Heilung als auch mit Exitus letalis konnten keine signifikanten Beziehungen festgestellt werden (Tab. 22 – 24, 26).

Da diese Untersuchungen keine signifikanten Aktivitätsdifferenzen der AP-Isoenzyme ergaben, wurde im Folgenden auf die Unterteilung in Heilung und Exitus letalis verzichtet und die verschiedenen Krankheitskomplexe im Gesamten zu den zwei Zeitpunkten verglichen. Die statistischen Lageparameter der Isoenzymaktivitäten sind den Tabellen 27 – 30 (Anhang) zu entnehmen.

Aber auch bei diesen Untersuchungen ergaben sich keine signifikanten Ergebnisse.

Gleiches zeigte sich beim Vergleich der Ergebnisse Heilung und Exitus letalis ohne eine Unterteilung in Krankheitskomplexe: auch hier gab es hinsichtlich der AP-Isoenzym-Aktivitäten keine signifikanten Unterschiede zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten. Die statistischen Lageparameter finden sich in Tabelle 31 und 32 (Anhang).

5 Diskussion

Methodenkritik:

Die elektrophoretische Auftrennung der AP-Isoenzyme auf Agarosegel mit Zugabe von Weizenkeimlektin hat sich als Methode der Wahl erwiesen, um die Komplexbildung von Leber- und Knochen-Isoenzym zu verhindern (VAN HOOFF et al. 1994). DESOIZE et al. (1987) verglichen die Resultate von Hitzeinaktivierung und Lektinfällung miteinander und trotz der hochgradigen Thermolabilität des Knochen-Isoenzyms erhielten sie akkuratere Ergebnisse bei der Verwendung von Lektin.

Ohne Zugabe des Lektins ergeben sich Probleme mit der Quantifizierung des Knochen- und Leber-1-Isoenzyms. Diese treten unabhängig vom Medium, in dem die Elektrophorese durchgeführt wird, auf. Die beiden Isoenzyme überlappen sich auf Grund sehr ähnlicher Migrationseigenschaften (FRITSCHKE et al. 1972, KOLB u. SCHMIDT 1976, ROGERS 1976, THOREN-TOLLING 1988, KNYRIM 1993). Laut SANDERINK et al. (1988) wird dieser Zustand durch fast identische isoelektrische Punkte hervorgerufen. SCHREIBER und WHITTA (1986) führen die Komplexbildung aber auf die geringe Variabilität der Kohlenhydratseitenketten der beiden Isoenzyme zurück.

ROSALSKI und YING FOO (1984) sowie MÜLLER (1986) beschrieben die Möglichkeit der Komplexauf trennung durch Zugabe von Lektin zum Elektrophoresepuffer bzw. durch Auftragen von Lektin auf die Startlinie.

Laut VAN HOOFF et al. (1994) wird mit dem hier verwendeten Isopal-Elektrophorese-System die Serum-AP des Menschen in zwei Leber-Isoenzyme, ein Knochen-Isoenzym, drei intestinale Isoenzyme und, sofern vorhanden, zwei plazentare Isoenzyme aufgetrennt. Beim Vergleich der Migrationseigenschaften des humanen Kontrollserums mit denen des Rinderserums, haben diese sich als fast identisch erwiesen, so dass diese Testmethode auch beim Rind angewendet werden kann. Das Migrationsmuster für das Rinderblut wurde unter Punkt 3.3.3, Abb. 2, dargestellt. Folgende Unterschiede können festgestellt werden: Bei den Rindern kann nur ein plazentares Isoenzym gefunden werden und dieses bildet einen Komplex mit dem Leber-2-Isoenzym, nicht wie beim Menschen mit dem Leber-1- und dem Knochen-Isoenzym. Das plazentare Isoenzym tritt bei trächtigen Kühen sowie bei Kühen < 2 Wochen p.p. auf, wobei es hier individuelle Unterschiede gibt. Verschiedene

intestinale Isoenzymformen können nur in Einzelfällen und auch nur andeutungsweise erkannt werden, so dass diese generell zu einem Isoenzym zusammengefasst und interpretiert worden sind. Außerdem fällt auf, dass das intestinale Isoenzym auch bei allen untersuchten gesunden Kühen im Serum auftritt. Beim Menschen ist es in über 60% der normalen Fälle abwesend (MOSS 1982). Dieses Ergebnis deckt sich mit den Angaben von ANTONOV (1997), der bei der Elektrophorese von Rinderserum in Agargel die gleiche Lage der Isoenzymbanden beschrieb. Auch bei der elektrophoretischen Auftrennung auf Polyakrylamidgel zeigten die Leberisoenzyme die höchste Mobilität, gefolgt vom Knochen-Isoenzym und dem intestinalen Isoenzym (YIN et al. 1993). FERMIN und RODRIGUEZ (1982) und BÁRDOS und BUCHHOLCZ (1986) wiesen die gleichen drei bzw. vier (d.h. mit Plazenta) Isoenzyme elektrophoretisch im Rinderserum nach.

Kühe mit Diarrhoe:

Bei den untersuchten Patienten mit Diarrhoe kommt es in keiner der Gruppen zu einer signifikanten Erhöhung der Gesamt-AP-Aktivität.

Unterteilt in die Gruppen „gesund“, „krank“ und „Rekonvaleszenz“ zeigen die erkrankten Kühe einen statistisch gesicherten Anstieg des intestinalen Isoenzym (Abb. 4). Da aber gleichzeitig eine Erniedrigung der Aktivität des Knochen-Isoenzym vorliegt, stellt sich die Gesamt-AP-Aktivität weitgehend unverändert dar.

Der Vergleich der Krankheitskomplexe „LMV li“, „LMV re“ und „akute Entzündungen“ mit den gesunden Kühen erbrachte keine signifikanten Ergebnisse hinsichtlich der Aktivität der AP und ihrer Isoenzyme (Abb. 6), weshalb darauf hier nicht näher eingegangen werden soll.

Bei der Einteilung nach den einzelnen Erkrankungen kommt es nur bei den Tieren mit Strangulationsileus zu einem signifikanten Aktivitätsanstieg des intestinalen Isoenzym mit einer medianen Aktivität von 71,4 U/l im Vergleich zu den gesunden Tieren und denen mit LMV li und LMV re (Abb. 8). Bei einem Strangulationsileus kommt es zum Verschluss von Mesenterialgefäßen und damit einhergehend zu einer Dünndarmnekrose, also zu einer hochgradigen Enterozytenzerstörung und einer erhöhten Gefäßpermeabilität. Dies führt zu einer vermehrten Abgabe von AP aus den Zellen und zu einer vermehrten Aufnahme von AP in den Blutkreislauf (GRAEBER et al. 1984, KAZMIERCZAK et al. 1988).

Weiterhin fallen hohe Aktivitäten der intestinalen AP bei Patienten mit Enteritis auf. Die mediane Aktivität beträgt hier 42,0 U/l. Im Rahmen der Entzündung kommt es zu einer verstärkten Durchblutung der Gefäße der Darmschleimhaut und vermutlich auch zu einer erhöhten Permeabilität der Enterozyten. Diese Erkrankung führen jedoch nicht zu einem so hochgradigen Anstieg des Isoenzym wie beim Strangulationsileus, wahrscheinlich da hier kein nekrotisches Geschehen vorliegt. Die Enterozyten werden also weniger stark geschädigt und somit wird weniger intestinale AP ins Blut abgegeben.

Dass es bei LMV li, LMV re und Labmagenulcera nur zu einer geringgradigen Aktivitätserhöhung der intestinalen AP mit einer medianen Aktivität von 28,9 U/l, 23,5 U/l und 28,2 U/l kommt, ist darauf zurückzuführen, dass es sich hier vermutlich um die sekretorische Form der Diarrhoe handelt, die nicht zu einer Zerstörung des Darmepithels führt. Die Diarrhoe bei Patienten mit LMV re und Labmagenulcera entsteht möglicherweise durch erhöhte HCl-Konzentrationen im Darm, durch das Vorliegen einer Hyperazidität bei Labmagenulcera und durch Übersäuerung des Darms nach Reposition des Labmagens bei LMV re, welche zu einer Schleimhautreizung führen.

Bei der Untersuchung der Patientengruppe mit einer AP-Aktivität ≥ 300 U/l zeigen diese auch eine signifikante Aktivitätserhöhung des intestinalen Isoenzym mit einer medianen Aktivität von 106,5 U/l gegenüber den Patienten mit einer AP-Aktivität < 300 U/l mit 24,8 U/l. Unter den 12 Kühen mit einer AP-Aktivität ≥ 300 U/l befinden sich 7 Diarrhoepatienten, von denen 5 Tiere starben oder euthanasiert wurden. Somit kann man schlussfolgern, dass eine Aktivitätserhöhung der Gesamt-AP und der intestinalen AP zu einer schlechten Prognose führt.

Die Aktivitäten der Enzyme GLDH, ASAT und GGT und auch die Bilirubinkonzentration zeigen bei den Kühen mit LMV re und li eine signifikante Erhöhung und korrelieren positiv miteinander. REHAGE et al. (1996) wiesen nach, dass 72 % der von ihnen untersuchten Rinder mit LMV li auch eine Leberverfettung zeigten und somit einen Anstieg der oben genannten Parameter aufwiesen. Sie bestätigen somit die Ergebnisse von GUL und GRÜNDER (1990). Auf Grund dieser Studien und aufgrund des Wissens, dass LMV und Leberverfettung vorwiegend postpartal auftreten und in den Komplex der mit dem Fettmobilisationssyndroms einhergehenden Krankheiten gehören (RUKKWAMSUK et al. 1999), kann man davon ausgehen, dass auch bei den hier untersuchten Kühen mit LMV zusätzlich

eine durch die LMV ausgelöste Leberverfettung vorliegt, die zwar nicht klinisch nachgewiesen worden ist, aber zu den beschriebenen Veränderungen in der blutchemischen Untersuchung geführt hat. Allerdings scheint die Leberbelastung nicht so stark ausgeprägt zu sein wie bei den Tieren, die sich in der selektierten Gruppe der Kühe mit Leberfunktionsstörung befinden, da im Gegensatz zu diesen Tieren das Leber-1 Isoenzym hier nicht signifikant erhöht ist.

Die Tiere in der Gruppe mit einer AP-Aktivität ≥ 300 U/l weisen auch signifikant höhere Aktivitäten von GLDH, ASAT und GGT auf verglichen mit den Tieren mit einer Aktivität < 300 U/l. Somit kann man davon ausgehen, dass bei den Patienten mit Diarrhoe in dieser Gruppe, bei denen es sich um schwerwiegend erkrankte Tiere mit schlechter Prognose handelt, auch eine stärker ausgeprägte sekundäre Leberbelastung vorliegt.

Der Anstieg der Bilirubinkonzentration ist nicht allein auf eine Leberschädigung zurückzuführen. McSHERRY et al. (1984) wiesen nur bei 8 von 195 untersuchten Rindern mit einer Bilirubinkonzentration $> 17 \mu\text{mol/l}$ eine Lebererkrankung nach. Die restlichen 187 Tiere hatten Erkrankungen, die scheinbar keine Verbindung mit der Bilirubinkonzentration aufwiesen. Im Gegensatz zu den Tieren mit Lebererkrankung war bei diesen 187 Rindern die Konzentration des unkonjugierten Bilirubins erhöht, was darauf hinweist, dass die Hyperbilirubinämie durch die Unfähigkeit der Leber unkonjugiertes Bilirubin aus dem Serum zu entfernen entsteht. Zudem spielt bei kranken, anorektischen Tieren eine Modifikation des Stoffwechsels eine große Rolle in der Entstehung der Hyperbilirubinämie. Die unzureichende Energieaufnahme bei Krankheit führt über eine sinkende Insulinkonzentration zur Stimulation der Lipolyse und damit zu einem Anstieg der freien Fettsäuren-, Bilirubin- und BHB-Konzentrationen. In den Hepatozyten konkurrieren die freien Fettsäuren mit dem Bilirubin um dieselben Transportproteine und so entsteht ein Inanitionsikterus, der zu einer Hyperbilirubinämie führt (FÜRLI u. SCHÄFER 1992). So erklärt sich auch in der vorliegenden Arbeit die Hyperbilirubinämie bei LMV li und re, Ileus und Endometritis / Mastitis. Mit einer medianen Konzentration von $18,5 \mu\text{mol/l}$ liegt bei den Tieren mit Strangulationsileus wiederum die ausgeprägteste Erhöhung vor.

Auch bei den Kühen mit einer AP-Aktivität ≥ 300 U/l liegt eine signifikante Erhöhung der Bilirubinkonzentration mit $24,4 \mu\text{mol/l}$ gegenüber der Gruppe < 300 U/l mit $8,9 \mu\text{mol/l}$ vor. Wie auch der Aktivitätsanstieg der Leberenzyme ist dies auf einen Inanitionsikterus mit einhergehender Anorexie zurückzuführen.

Auch die erniedrigten Cholesterol- und Ca-Konzentrationen sind durch die Inappetenz zu erklären, wodurch es zu einer verminderten Resorption dieser Metaboliten aus dem Darm kommt. Es hat sich erwiesen, dass die Cholesterolkonzentration eng mit der Futteraufnahme in Beziehung steht (FÜRLL et al. 2007) und dass die Bestimmung der Cholesterolkonzentration Verdauungsstörungen sehr gut anzeigt (FÜRLL 1989). Dies spiegelt sich auch in den vorliegenden Untersuchungen wider: Den stärksten Konzentrationsabfall erfuhren wiederum die Kühe mit Ileus mit einer medianen Aktivität von 1,36 mmol/l. Darauf folgten die Kühe mit LMV li mit 1,86 mmol/l und die Kühe mit LMV re mit 1,92 mmol/l (Abb. 9). Dies kann dadurch erklärt werden, dass es bei diesen Erkrankungen zu einem Reflux von Gallensäuren und damit auch von Cholesterol vom Duodenum in den Labmagen kommt. Somit wird die normale Zirkulation Leber – Galle – Darm – Leber unterbrochen und eine Hypcholesterolämie entsteht (BRAUN et al. 1989, GEISHAUSER u. SEEH 1996).

Eine sinkende Cholesterolkonzentration scheint zudem auf eine ungünstige Prognose hinzuweisen (FÜRLL 2000). Von den 4 Patienten mit Ileus wurden 2 Tiere euthanasiert und 1 Tier starb. Auffällig ist weiterhin, dass bei den Patienten mit einer AP-Aktivität von ≥ 300 U/l die mediane Cholesterolkonzentration mit 1,36 mmol/l signifikant niedriger ist als bei der Gruppe mit einer AP-Aktivität < 300 U/l, bei der die mediane Konzentration 2,42 U/l beträgt. Von den 7 Diarrhoepatienten, die sich in der Gruppe mit einer AP-Aktivität ≥ 300 U/l befinden, wurden 5 Kühe euthanasiert oder starben, was wiederum mit einer schlechten Prognose bei niedriger Cholesterolkonzentration in Einklang zu bringen ist.

Bei den Kühen mit LMV kann auch die möglicherweise zusätzlich vorliegende Leberbelastung zu einer Verminderung der Cholesterolkonzentration im Serum führen, da sowohl die Synthese in der Leber als auch die Sekretion aus der Leber gestört sein kann (FÜRLL 1989). Die Tiere mit LMV li haben eine mediane Aktivität von 1,86 mmol/l und die mit LMV re von 1,92 mmol/l im Gegensatz zu den Gesunden mit 3,45 mmol/l.

Die Erhöhung der Harnstoffkonzentration bei den erkrankten Kühen ist in den meisten Fällen als Folge einer Kreislaufinsuffizienz, also als eine prärenale Azotämie, anzusehen. Sie kann durch eine krankheitsbedingte Hypotension begründet werden, in deren Folge die glomeruläre Filtrationsrate der Nieren herabgesetzt wird und somit die Blutharnstoffkonzentration ansteigt (KASTNER

2002). Außer bei den Ileuspatienten handelt es sich aber um vernachlässigbare Erhöhungen. Der Harnstoff bei Kühen mit Ileus hat eine mediane Konzentration von 16,29 mmol/l. Hier könnte auch eine renale Komponente in Frage kommen, da es bei dieser Erkrankung durch Freisetzung von Endotoxinen auch zu einer Störung der Nierenfunktion kommen kann.

Kühe mit Leberfunktionsstörung:

Das Fettleber- und Fettmobilisationsyndrom des Rindes entsteht entweder durch sogenannte Auslöserkrankheiten (ROSSOW 1988), wie LMV, entzündliche Prozesse oder Geburts- und Puerperalstörungen, oder kann auch durch Umstellung auf einen Fastenstoffwechsel bei Nahrungsentzug hervorgerufen werden (FÜRLL 1989). Bei den hier untersuchten Kühen mit Leberfunktionsstörung handelt es sich aber um Kühe, die mit der Diagnose Leberverfettung in der Medizinischen Tierklinik behandelt worden sind, ohne dass eine Primärerkrankung festgestellt werden konnte.

Nur bei den Patienten mit gestörter Leberfunktion, die später euthanasiert worden bzw. verstorben sind, kommt es zu einem signifikanten Aktivitätsanstieg der Gesamt-AP mit einer medianen Aktivität von 178 U/l (Abb. 10) im Vergleich zu den gesunden Rindern mit einer medianen AP-Aktivität von 122 U/l. Dem zu Grunde liegt eine Aktivitätssteigerung des Leber-1-Isoenzym, welches eine mediane Aktivität von 116,5 U/l zeigt. Die erhöhte Aktivität wird nicht wie bei den Diarrhoeerkrankungen durch eine Anteilsverminderung der anderen Isoenzyme kompensiert, so dass z.B. die Leber-1-AP-Aktivität negativ mit der Knochen-AP-Aktivität korreliert. Über die Ursache des Aktivitätsanstiegs des Leber-Isoenzym und damit der Gesamt-AP gibt es verschiedene Meinungen: KHATTAB (1976) und FERMIN und RODRIGUEZ (1982) führen ihn auf den Austritt des Enzyms aus den zerstörten Leberzellen zurück. MOSS (1982) schreibt ihn einer vermehrten AP-Synthese in den Hepatozyten zu, was vergleichbar ist mit der erhöhten osteoblastischen Aktivität bei Knochenerkrankungen, die zu einem Anstieg des Knochen-Isoenzym führt. Diese Ansicht stimmt überein mit den Ergebnissen von PEKARTHY et al. (1972): Demnach kommt es bei einem intensiveren Fettstoffwechsel zu einer Anflutung von Phosphatidylcholin und anderen Metaboliten in der Leber, die mit einer erhöhten Synthese des Leber-Isoenzym und damit mit einer zunehmenden Gesamt-AP-Aktivität verbunden ist. Ein intensiverer Fettstoffwechsel liegt bei Kühen mit der Diagnose Leberverfettung sicherlich vor, zumal die erhöhten medianen BHB-

Konzentrationen von 0,98 mmol/l bei den Kranken und von 1,67 mmol/l bei den Kühen mit Exitus letalis für eine ketotische Stoffwechsellaage aufgrund der mangelhaften Futteraufnahme sprechen. Im Vergleich dazu beträgt die mediane BHB-Konzentration bei den Gesunden 0,44 mmol/l.

Von den 12 untersuchten Kühen mit einer AP-Aktivität ≥ 300 U/l, sind 5 Patienten mit Leberfunktionsstörung. Von diesen 5 Tieren starben 3 Tiere bzw. wurden euthanasiert. Dies lässt wiederum die Schlussfolgerung zu, dass eine hochgradige AP-Erhöhung mit einer schlechten Prognose in Zusammenhang zu bringen ist.

Zu einem Aktivitätsanstieg des Leber-2-Isoenzyms kommt es bei den untersuchten Tieren nicht, da dieses Isoenzym bei Cholestasen und Zirrhosen erhöht ist (VAN HOOFF et al. 1994).

Zwischen der Erhöhung der Gesamt-AP-Aktivität und den Aktivitäten der anderen untersuchten Enzyme mit Ausnahme der ALAT, also der GLDH, ASAT und GGT, besteht ein statistisch gesicherter Zusammenhang. Die Hyperenzymämie bei Lebererkrankungen ist auf eine Permeabilitätssteigerung, eine Enzyminduktion und eine Unausgeglichenheit des Zellenergiehaushaltes zurückzuführen (VASILOV 1977). Ein Aktivitätsanstieg der Leberenzyme soll positiv mit dem Grad der Verfettung korrelieren (GUL u. GRÜNDER 1990, WEST 1990, YOSHINO et al. 1992, REHAGE et al. 1996, CEBRA et al. 1997, PALMER u. OLSEN 2002). In den vorliegenden Untersuchungen fällt aber auf, dass diese Aussage nur bedingt zutrifft, wenn man davon ausgeht, dass die verstorbenen Tiere die stärkste Leberverfettung und damit die größte Aktivitätserhöhungen zeigen müssten. Die medianen Aktivitäten von Gesamt-AP, ASAT und ALAT sind bei ihnen mit 178 U/l, 278 U/l und 18 U/l am höchsten. Aber die medianen Aktivitäten von GLDH und GGT weisen bei den kranken und / oder bei den rekonvaleszenten Tieren eine höhere Aktivität auf als bei den euthanasierten bzw. verstorbenen Tieren (Abb. 11). Auch wenn die ASAT nicht als leberspezifisches Enzym angesehen werden kann, da auch hohe Aktivitäten in Herz- und Skelettmuskulatur vorliegen, wird sie in der Literatur häufiger als andere leberspezifische Enzyme als Indikator für die Schwere der Leberverfettung angegeben. Dies trifft auch für diese Arbeit zu: Im Vergleich zu den kranken Tieren mit einer medianen Aktivität von 197,0 U/l zeigt die ASAT bei den Tieren mit Exitus letalis eine viel hochgradigere Erhöhung mit einer medianen Aktivität von 278,1 U/l (Abb. 11). Um zu bestätigen, dass diese Aktivitätserhöhung wirklich durch eine

Leberveränderung zu Stande kommt, hätte als muskelspezifisches Enzym zusätzlich die CK-Aktivität zur Abgrenzung bestimmt werden müssen.

Auch die Bilirubinkonzentration, welche in Zusammenhang mit einer erhöhten Enzymaktivität ebenfalls ansteigt, zeigt bei den euthanasierten bzw. verstorbenen Patienten eine höhere Konzentration als bei den Patienten mit späterer Rekonvaleszenz (Abb. 12) und korreliert laut GUL und GRÜNDER (1990), WEST (1990), YOSHINO et al. (1992), REHAGE et al. (1996) und CEBRA et al. (1997) mit dem Grad der Leberverfettung. Erhöhungen des Gesamtbilirubins bis 20 $\mu\text{mol/l}$ werden wie oben beschrieben als Inanitionsikterus angesehen. Bei den Tieren mit Exitus letalis aber liegt die mediane Konzentration schon bei 20,5 $\mu\text{mol/l}$ und das 3. Quartil umfasst Konzentrationen über 50 $\mu\text{mol/l}$. Nach CEBRA et al. (1997) zeigt die ASAT-Aktivität aber eine noch höhere Spezifität und Sensitivität als Indikator für den Verfettungsgrad als die Bilirubinkonzentration.

Die signifikante Erniedrigung der Cholesterolkonzentration im Serum bei allen erkrankten Kühen ist bei einer Hepatopathie zu erwarten, da die Veresterung in der Leber und auch die Sekretion aus der Leber gestört ist. Laut KLEISER und FÜRLI (1998) eignet sich neben der Messung der CK-Aktivität und der Bilirubinkonzentration insbesondere die Bestimmung der Cholesterolkonzentration sehr gut als Screening für Kühe, die postpartal stark für Krankheiten des Fettmobilisationssyndroms, wie LMV, Retentio secundinarum und Mastitis, gefährdet sind. Sinkende Cholesterolkonzentrationen sind als prognostisch ungünstig anzusehen (FÜRLI 2000). In diesem Zusammenhang ist es bezeichnend, dass die Cholesterolkonzentration bei den euthanasierten bzw. verstorbenen Tieren mit einem Medianwert von 1,89 mmol/l weit unter der medianen Konzentration von 2,82 mmol/l bei den Patienten mit Heilung liegt (Abb. 12).

Die Harnstoffkonzentration sollte auf Grund der verringerten Syntheseleistung der geschädigten Leber und des Hungerzustandes eigentlich verringert sein (WEST 1990). Der Anstieg bei Tieren mit Heilung und geheilten Tieren ist, wie bei den Diarrhoepatienten beschrieben, auf eine zirkulationsbedingte, prärenale Azotämie mit folgender Hypotension zurückzuführen.

Die geringe Ca-Konzentration ist bei den erkrankten Kühen durch eine verminderte Aufnahme auf Grund der sistierenden Futteraufnahme zu erklären.

Vergleichende Blutuntersuchungen zu Beginn und am Ende des Klinikaufenthaltes:

Signifikante Veränderungen bei den unterschiedlichen Erkrankungen zu den verschiedenen Blutentnahmezeiten liegen nur für Gesamteiweiß-, Calcium-, Harnstoff, BHB- und Cholesterolkonzentrationen vor. Da jedoch alle Parameter nur geringgradige Abweichungen vom jeweiligen Referenzbereich aufweisen, werden die Ergebnisse als nicht relevant bewertet und werden somit nicht näher besprochen.

Im Hinblick auf die eingangs formulierten Fragestellungen bezüglich der Diarrhoe- und Lebererkrankungen können folgende Schlussfolgerungen gezogen werden:

1. Eine Funktionsstörung des Darmes führt bei an Diarrhoe erkrankten Rindern zu einem Aktivitätsanstieg des intestinalen Isoenzym im Blutserum ($M=22,7$ U/l). Die Gesamt-AP-Aktivität ist jedoch nicht erhöht und somit würde die alleinige Bestimmung der Gesamt-AP-Aktivität auch keinen Aufschluss über eine Erhöhung der Aktivität der intestinalen AP geben.
Aber eine Aktivitätserhöhung der Gesamt-AP über 300 U/l mit einer entsprechend hohen Aktivität der intestinalen AP scheint mit einer schlechten Prognose für den Erkrankungsverlauf einherzugehen.
2. Nach Abklingen der Diarrhoe ist die Wiederherstellung der Darmfunktion anhand der Aktivität der intestinalen AP nachvollziehbar, da bei den Untersuchungen unter 4.1.1 kein signifikanter Unterschied zwischen den gesunden Kühen und den rekonvaleszenten Kühen besteht.
Andererseits besteht keine signifikante Differenz zwischen den kranken und den rekonvaleszenten Tieren und auch bei den Verlaufsuntersuchungen hat sich keine signifikante Aktivitätsdifferenz hinsichtlich des intestinalen Isoenzym ergeben. Somit kann man in dieser Studie die Normalisierung der Darmfunktion nur im Vergleich mit einem gesunden Tier nachweisen, nicht aber anhand von zu verschiedenen Zeitpunkten entnommenen Blutproben bei ein und demselben Individuum.
3. Auf den Schweregrad der zu Grunde liegenden Erkrankung gibt eine Aktivitätserhöhung des intestinalen Isoenzym zumindest einen Hinweis. Die Patienten mit Strangulationsileus weisen die signifikant höchsten Aktivitäten auf ($M=71,4$ U/l), jedoch existieren auch innerhalb der anderen Krankheitskomplexe vereinzelt Tiere mit ähnlich hohen Aktivitäten.

4. Hinsichtlich einer Prognosestellung erweist sich die Cholesterolkonzentration als wichtiger Parameter. Sowohl bei Tieren mit Strangulationsileus ($M=1,36$ mmol/l) als auch bei den Kühen mit einer AP-Aktivität ≥ 300 U/l ($M=1,36$ mmol/l) werden die niedrigsten Konzentrationen gemessen.
5. Bei einer Leberfunktionsstörung lässt der Grad der Aktivitätserhöhung von Gesamt-AP und Leber-1-AP einen Rückschluss auf die Schwere des Krankheitsbildes zu: Im Gegensatz zu den euthanasierten bzw. verstorbenen Patienten liegt bei den Patienten mit Heilung keine signifikante Erhöhung gegenüber den gesunden Kühen vor, was bedeutet, dass es erst im fortgeschrittenen, prognostisch schlechten Krankheitsverlauf zu einem hochgradigeren Aktivitätsanstieg der AP kommt.
6. Allerdings ergeben sich keine signifikanten Aktivitätsunterschiede der Gesamt-AP und des Leber-1-Isoenzyms zwischen den Patienten mit späterer Euthanasie bzw. Tod und den Patienten mit späterer Heilung. Somit ist anhand dieser Parameter keine Prognose hinsichtlich des Ausgangs der Erkrankung möglich.
7. Auffällig hochgradige Unterschiede zwischen diesen Patientengruppen zeigen sich bei den Parametern ASAT, Bilirubin und Cholesterol, womit diese positiv mit dem Grad der Funktionsstörung zu korrelieren scheinen und sich daher eher für eine prognostische Aussage eignen.

Fazit: Funktionsstörungen der betroffenen Organe sind anhand der unterschiedlichen Aktivität der AP-Isoenzyme bei gesunden und kranken Rindern erkennbar. Jedoch ist die Aussagekraft der Isoenzymaktivitäten im Hinblick auf die Grunderkrankung bzw. die Prognose zu gering, als dass der Einsatz dieser zeit- und kostenintensiven Methode in Klinik und Praxis zur Zeit gerechtfertigt wäre.

6 Zusammenfassung

Katrin Timm

Diagnostische Bedeutung der alkalischen Phosphatase und ihrer Isoenzyme im Blutserum von Kühen

Medizinische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Eingereicht im Juni 2007

71 Seiten, 13 Abbildungen, 14 Tabellen, 153 Literaturangaben, 1 Anhang

Schlüsselwörter: Milchkuh, Alkalische Phosphatase, Isoenzyme, Elektrophorese, Diarrhoe

Die alkalische Phosphatase (AP) ist in Form von verschiedenen Isoenzymen in fast allen Geweben und Flüssigkeiten des Organismus vorhanden. Durch die Auftrennung der Gesamt-AP in ihre Isoenzyme ist eine Lokalisation von krankhaften Prozessen möglich. Da in der Veterinärmedizin die AP-Isoenzymdiagnostik bisher nicht praktisch zum Einsatz kommt, wurde in der vorliegenden Arbeit die Aussagekraft der Isoenzym-Aktivitäten bei verschiedenen Krankheitsbildern und die Eignung dieses Verfahren für den Einsatz in Klinik und Praxis untersucht.

Die Untersuchungen wurden an insgesamt 106 Rindern durchgeführt. 25 gesunde Rinder bildeten eine Kontrollgruppe. 69 an Diarrhoe erkrankte Kühe wurden gemäß ihrer Primärerkrankung in 6 Gruppen eingeteilt: Labmagenverlagerung nach links (LMV li) (n=28), Labmagenverlagerung nach rechts (LMV re) (n=20), Enteritis (n=5), Strangulationsileus (n=4), Labmagenulcera (n=5) und Endometritis / Mastitis (n=7). Zwei weitere Gruppen bildeten Rinder mit einer Leberfunktionsstörung (n=20) und Rinder mit einer hochgradigen Aktivitätserhöhung der Gesamt-AP ≥ 300 U/l (n=12). Zudem wurden Blutproben vom Tag der Aufnahme und der Entlassung verglichen.

Die AP-Isoenzyme im Blutserum wurden mit Hilfe des Testkits HYDRAGEL ISO-PAL K20 der Firma Sebia, Fulda elektrophoretisch auf Agarosegel aufgetrennt in die

Leber-1-, Leber-2-, Knochen- und intestinalen Isoenzyme. Außerdem wurden bestimmt: Gesamt-Alkalische-Phosphatase, Glutamat-Dehydrogenase, Aspartat-Amino-Transferase (ASAT), Gamma-Glutamyl-Transferase, Alanin-Amino-Transferase, Gesamtbilirubin, Gesamteiweiß, Harnstoff, Beta-Hydroxybuttersäure, Cholesterol, Calcium, anorganisches Phosphat und Leukozyten.

Bei den gesunden Kühen beträgt die mediane Aktivität der Gesamt-AP 122 U/l, die der intestinalen AP 22,7 U/l und die der Leber-1-AP 51,0 U/l.

Bei den Kühen mit Diarrhoe ist die intestinale AP-Aktivität bei Erkrankung signifikant erhöht ($M=28,2$ U/l). Bei der Unterteilung in verschiedene Erkrankungen weist sie bei den Tieren mit Strangulationsileus eine signifikant höhere Aktivität als bei den anderen Krankheiten auf ($M=71,4$ U/l). Die Gesamt-AP-Aktivität ist jedoch in keinem Fall signifikant erhöht und gibt somit keinen Hinweis auf einen Aktivitätsanstieg der intestinalen AP. Nach Abklingen der Diarrhoe ist die Wiederherstellung der Darmfunktion anhand einer Normalisierung der intestinalen AP-Aktivität nachvollziehbar, da zwischen den gesunden Kühen und den rekonvaleszenten Tieren ($M=24,2$ U/l) kein signifikanter Unterschied besteht. Jedoch lässt die Aktivität des intestinalen Isoenzyms keine Rückschlüsse auf die zu Grunde liegende Grunderkrankung zu, weil auch bei den anderen Erkrankungen ähnlich hohe Aktivitäten der intestinalen AP wie beim Ileus existieren. Auffällig ist auch eine Hypcholesterolämie bei den Kühen mit LMV li ($M=1,86$ mmol/l), LMV re ($M=1,92$ mmol/l) und besonders bei den Tieren mit Ileus ($M=1,36$ mmol/l) gegenüber den Gesunden ($M=3,45$ mmol/l). Die Untersuchung von Gesamt-AP-Aktivität und Leber-1-AP-Aktivität bei den Patienten mit einer Leberfunktionsstörung ergibt, dass der Grad der Erhöhung dieser Parameter einen Rückschluss auf die Schwere der Erkrankung zulässt. Bei den später verstorbenen Kühen sind für die Gesamt-AP ($M=178$ U/l) und für das Leber-1-Isoenzym ($M=116,5$ U/l) die hochgradigsten Aktivitätsanstiege zu verzeichnen. Eine Prognose hinsichtlich des Ausgangs der Erkrankung ist allerdings nicht zu treffen, weil keine signifikanten Aktivitätsunterschiede zwischen Kühen mit Exitus letalis und Heilung bestehen. Aber die ASAT-Aktivitäten ($M=278,1$ U/l) und die Bilirubinkonzentrationen ($M=20,5$ μ mol/l) sind bei den Tieren mit Exitus letalis deutlich höher als bei den rekonvaleszenten Kühen ($M=145,6$ U/l bzw. $12,5$ μ mol/l) und sind somit prognostisch verwertbar.

Auf Grund dieser Ergebnisse erscheint die Aussagekraft der AP-Isoenzymdiagnostik als zu gering, um diese Methodik in Praxis und Klinik zur Zeit anzuwenden.

7 Summary

Katrin Timm

Diagnostic value of alkaline phosphatase and its isoenzymes in the blood serum of cows

Large Animal Clinic for Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig

Submitted in June 2007

71 pages, 13 figures, 14 tables, 153 references, 1 appendix

Keywords: dairy cow, alkaline phosphatase, isoenzymes, electrophoresis, diarrhea

Alkaline phosphatase (AP) is present in almost all tissues and fluids of the organism in form of its different isoenzymes. The separation of AP in its isoenzymes enables to localize the origin of pathological processes. In veterinary science the analysis of AP-isoenzymes has not been used yet as a common diagnostic procedure. The purpose of this dissertation was to analyse the validity of isoenzyme-activities in different diseases and the qualification for the use in veterinary clinics and practices.

Altogether the blood sera of 106 cows were analysed. 25 healthy cows formed a control group. 69 animals with diarrhea were separated in 6 groups according to their primary illnesses: Left displacement of the abomasum (LDA) (n=28), right displacement of the abomasum (RDA) (n=20), enteritis (n=5), intestinal strangulation (n=4), abomasal ulcers (n=5) and endometritis / mastitis (n=7). Two more groups were formed by cows with an impairment of the liver function (n=20) and cows with a severe elevation of AP ≥ 300 U/l (n=12). Furthermore, blood samples from the day of admission to the clinic and the day of dismissal were analysed comparatively.

The AP-isoenzymes in the blood serum were separated by electrophoresis on agarose gel using the testkit HYDRAGEL ISO-PAL K20 by Sebia, Fulda into liver-1-, liver-2, bone- and intestinal-AP-isoenzymes.

In addition, the following blood parameters were analysed: Total-alkaline-phosphatase, glutamat-dehydrogenase, aspartat-aminotransferase (ASAT), gamma-glutamyltransferase, alanin-aminotransferase, total bilirubin, total protein, urea, beta-hydroxybutyric acid, cholesterol, calcium, inorganic phosphate und leukocytes.

Median activities for healthy cows are 122 U/l for total-AP, 22,7 U/l for intestinal AP and 51,0 U/l for liver-1-AP.

In cows with diarrhea the intestinal AP-activity is significantly elevated ($M=28,2$ U/l). Separated in the different diseases, it shows the highest activity in patients with intestinal strangulation ($M=71,4$ U/l). However, the total-AP-activity never shows a significant elevation and consequently does not give any information about a possible alteration in activity of the intestinal isoenzyme. After the regression of diarrhea the recovery of the intestinal function is shown by a decrease of intestinal AP-activity, as there is no significant difference between the intestinal AP-activity in healthy cows and reconvalescent cows ($M=24,2$ U/l). Yet, the analysis of intestinal AP does not give any conclusion about the primary disease that lead to diarrhea as patients with other illnesses can also have similarly high activities of the intestinal isoenzyme as the cows with intestinal strangulation. Another parameter that gives information about the bowel function is the cholesterol concentration. Animals with LDA ($M=1,86$ mmol/l), RDA ($M=1,92$ mmol/l) and especially with intestinal strangulation ($M=1,36$ mmol/l) present significantly lower concentrations than healthy cows ($M=3,45$ U/l).

The analysis of total-AP-activity and liver-1-AP-activity in cows with an impairment of the liver function shows that the degree of elevation of these parameters correlates with the severity of the disease. The cows that died later have the most severe elevation in activity of total-AP ($M=178$ U/l) and of the liver-1-isoenzyme ($M=116,5$ U/l). However, it is not possible to provide a prognosis regarding the outcome of the illness as there do not exist any significant differences in enzyme activity between deceased cows and healed cows. Concerning this question the analysis of ASAT-activity and bilirubin-concentration proved to be more successful. In patients with exitus letalis the ASAT-activities ($M=278,1$ U/l) and bilirubin concentrations ($M=20,5$ $\mu\text{mol/l}$) are much higher than in the reconvalescent cows ($M=145,6$ U/l and $12,5$ $\mu\text{mol/l}$).

Based on these results the validity of the analysis of AP-isoenzyme-activity appears too little to justify the use of this method in veterinary practices and clinics at the moment.

8 Literaturverzeichnis

Andrews EJ. Alterations of selected intestinal enzymes in hamsters with hamster enteritis syndrome. Am J Vet Res. 1975 Jul; 36(7): 889-91.

Antonov S, Lalov KH. Alkaline phosphatase activity in the blood serum and organs of cattle with leucosis. Vet Med Nauki. 1978; 15(10): 56-60.

Antonov S. Activity and characteristics of alkaline phosphatase in the cattle and sheep organs. Vet Med Nauki. 1979; 16(20): 41-7.

Antonov S, Malchevski M. Changes in the alkaline phosphatase activity and properties of the blood serum in sheep with experimental liver disease. Vet Med Nauki. 1980; 17(6-7): 52-7.

Antonov S, Malchevski M. Activity of alkaline phosphatase isoenzymes in the blood serum of cattle, sheep and swine. Vet Med Nauki. 1983; 20(9): 3-11.

Antonov S, Malchevski M, Tsvetkov A. Changes in the serum alkaline phosphatase of sheep and cattle with acute acidosis of the forestomach. Vet Med Nauki. 1983; 20(3-4): 20-7.

Atroshi F, Parantainen J, Sankari S, Jarvinen M, Lindberg LA, Saloniemi H. Changes in inflammation-related blood constituents of mastitic cows. Vet Res. 1996; 27(2):125-32.

Bárdos L, Buchholcz E. Examinations of multiple-form enzymes in the bovine sera. Bull of the Univ of Agric Sci Gödöllő. 1986; 1.

Behr W, Barnert J. Quantification of bone alkaline phosphatase in serum by precipitation with wheat-germ lectin: a simplified method and its clinical plausibility. Clin Chem. 1986; 32(10): 1960-6.

Beresford JN, Gallagher JA, Russell RGG. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 and human bone-derived cells in vitro: Effects on alkaline phosphatase, type I collagen and proliferation. *Endocrinology*. 1986; 4: 1776-85.

Besman M, Coleman JE. Isoenzymes of bovine intestinal alkaline phosphatase. *J Biol Chem*. 1985 Sep 15; 260(20): 1190-3.

Bikle DD, Zolock DT, Munson S. Differential response of duodenal epithelial cells to 1,25-Dihydroxyvitamin D3 according to position on the villus: A comparison of calcium uptake, calcium-binding protein and alkaline phosphatase activity. *Endocrinology*. 1984; 115: 2077-84.

Blwot SR, Bedi SPS, Khan SA, Sawhney PC. Effect of manganese supplementation on the digestibility of proximate principles, balances of nutrients and blood constituents in growing cow calves. *Indian J Anim Sci*. 1981; 51(8): 752-5.

Bomhard D von. Verhalten der Phosphomonoesterasen-Aktivität im Blutserum beim Rind unter Berücksichtigung der Umgebungstemperatur, der Jahreszeit, des Alters, der Gravidität, der Laktation und der Milchfettleistung. Individuelle Unterschiede und Mindestdifferenzen [Dissertation med. vet]. Gießen: Univ. Gießen; 1971.

Borson WF, Anderson RA, Falk MC, Kennedy FS, Vallee BL. Effect of magnesium on the properties of zinc alkaline phosphatase. *Biochem*. 1977; 16: 610-4.

Braun U, Hausammann K, Forrer R. Reflux of bile acids from the duodenum into the rumen of cows with a reduced intestinal passage. *Vet Rec*. 1989; 124 (14): 373-6.

Bywater RJ. The post-natal changes in AP-activity of bovine intestinal mucosa studied in post-mortem and biopsy specimens. *Re Vet Sci*. 1968; 9: 231-6.

Carrascosa C, Parra S, Lorenzo I, Marin C, Miras M, De la Pena C, Martinez P. Familial hyperphosphatasemia of intestinal origin. *Rev Esp Enferm Dig*. 1995; 87(4): 327-9.

Cathda G, Brunel C, Chappelet-Tordo D, Lazdunski M. Bovine kidney AP: a) Purification, subunit structure and metalloenzyme properties; b) Catalytic properties, subunit interactions in the catalytic process and mechanism of Mg-stimulation. J Biol Chem. 1975; 250: 6040, 6064.

Cebra CK, Garry FB, Getzy DM, Fettman MJ. Hepatic lipidosis in anorectic, lactating Holstein cattle: a retrospective study of serum biochemical abnormalities. J Vet Intern Med. 1997 Jul-Aug; 11(4): 231-7.

Chudy D, Ivanko S, Sulik E, Korenek M. Purification and partial characterization of alkaline phosphatase from calf intestine mucosa. Biologia Bratislava. 1993; 48(6): 623-9.

Colbeau A, Maroux S. Integration of alkaline phosphatase in the intestinal brush border membrane. Biochim Biophys Acta. 1978 Jul 20; 511(1): 39-51.

Crofton PM. Biochemistry of alkaline phosphatase isoenzymes. Crit Rev Clin Lab Sci. 1982; 16: 161.

Davis TE, Krook L, Warner RG. Bone resorption in hypovitaminosis A. Cornell Vet. 1970; 60: 90.

Deng JT, Hoylaerts MF, Van Hoof VO, De Broe ME. Differential release of human intestinal alkaline phosphatase in duodenal fluid and serum. Clin Chem. 1992 Dec; 38(12): 2532-8.

Desoize B, Cravero L, Cornoe L, Jardillier JC. Specific precipitation assay of bone and liver isoenzymes of serum alkaline phosphatase. Bull Cancer. 1987; 74: 13-22.

Domar U, Danielsson A, Hirano K, Stigbrand T. Alkaline phosphatase isoenzymes in non-malignant intestinal and hepatic diseases. Scand J Gastroenterol. 1988; 23(7): 793-800.

Ehle H, Bublitz R, Horn A. Intralumenal alkaline phosphatase of the calf intestine. Biomed Biochim Acta. 1985; 44: 223-33.

Ekman L. Variation of some blood biochemical characteristics in cattle, horses and dogs, and causes of such variations (GOT, GPT, AP, CK). Ann Rech Vet. 1976; 7: 125-8.

Eliakim R, Becich MJ, Green K, Alpers DH. Both tissue and serum phospholipases release rat intestinal alkaline phosphatase. Am J Physiol. 1990 Oct; 259(4.1): G618-25.

Ensinger H. Untersuchungen an hochgereinigter alkalischer Phosphatase: ein Vergleich der Struktur der Enzyme aus Rinderniere, Kälberdünndarm und Kälberleber und Bedeutung der Zn-Ionen für Katalyse und Struktur der alkalischen Phosphatase aus Kälberdünndarm [Dissertation chem]. Stuttgart: Univ. Stuttgart; 1979.

Fay JP, Cheng KJ, Costerton JW. AP-activity within the walls of different organs of the gastrointestinal tract in newborn, young and yearling bovines: effects of diet and fasting. Canad J Animal Sci. 1981; 61: 311-8.

Fermin M, Rodriguez M. A study on behaviour of serum AP and its isoenzymes in the various hepatopathies of dairy cows. Proc. XII. World Congress on diseases of cattle, Amsterdam 1982; 1: 517-21.

Fichtner R. Klinisch-diagnostische Untersuchungen bei generalisierten Osteochondropathien von Mastbullen unter besonderer Berücksichtigung moderner Ernährungsregimes [Dissertation biol]. Berlin: Humboldt-Univ.; 1978.

Fichtner R, Seffner W. Untersuchungen zur Osteoporose beim Mastrind. Monatsh Veterinärmed. 1980; 35: 825-30.

Fishman WH. Perspectives on alkaline phosphatase isoenzymes. Am J Med. 1974; 56: 617.

Frerking H, Blesenkemper E, Peters-Borg A. Enzymuntersuchungen bei bis zu drei Monate alten kranken Kälbern sowie Ergebnisse der Faktorenanalyse. Dtsch Tierärztl Wochenschr. 1984; 91(8): 11-2.

Fritsche HA, Adams-Park HR, Adam-Park J. Cellulose acetate electrophoresis of alkaline phosphatase isoenzymes in human serum and tissue. Clin Chem. 1972; 18(5): 417-21.

Fürll M, Lachmann G, Lippmann R. Untersuchungen zur metabolischen Azidose beim Schaf, 1. Mitt.: Zum Verhalten von Serumenzymen und Kreatinin unter den Bedingungen einer metabolischen Azidose. Monatsh Veterinärmed. 1977; 32: 248-51.

Fürll M. Vorkommen, Ätiologie, Pathogenese, Diagnostik und medikamentelle Beeinflussung von Leberschäden beim Rind [Habilschr. med. vet]. Leipzig: Univ. Leipzig; 1989.

Fürll M, Schäfer M. Lipolyse und Hyperbilirubinämie – ein Beitrag zur Pathogenese des Ikterus. Monatsh Veterinärmed. 1992; 47: 181-5.

Fürll M, Schäfer M, Dabbagh MN. Auswirkungen dreiwöchiger Buttersäurebelastung auf den Mineralstoffwechsel und das Skelettsystem bei Rindern. Berl Münch Tierärztl Wochenschr. 1993; 106: 370-7.

Fürll M. Das Fettmobilisationssyndrom. Großtierpraxis. 2000; 1: 24-34.

Fürll M, Arndt A, Junkert I, Kastner A, Kretschmar A, Wilken H. Clinical pathophysiological observations of cholesterol in cattle. Proc. 21st Meeting EITG, 2007: 122.

Fuquay JW, Zook AB, Poe WE, Brown WH, Custer EW. Metabolic and physiologic response of dairy cattle to coliform mastitis. J Dairy Sci. 1975; 58: 751.

Geishauser T, Seeh C. Duodeno-abomasal reflux in cows with abomasal displacement. Zentralbl. Veterinärmed. 1996; 43 (7): 445-50.

Georgievskii VI, Degtyarev VP. Alkaline phosphatase activity in the digestive tract of cattle, sheep, swine, rabbits, dogs and cats. Izvestiya Timiryazevskoi Selskokhozyaistvennoi Akademii. 1975; 1: 164-72.

Graeber GM, Wolf RE, Harmon JW. Serum creatine kinase and alkaline phosphatase in experimental small bowel infarction. J Surg Res. 1984 Jul; 37(1): 25-32.

Graubaum HJ. Isoenzymdiagnostik bei Lebererkrankungen [Dissertation med]. Berlin: Humboldt-Univ.; 1977.

Greuner-Sigusch P. Alkalische Phosphatase. Ärztl Lab. 1977; 23: 44-8.

Grimoldi RJ, Frattini JF, Marquez A, Stefanini O, Williams MB. Study of the liver function of normal cattle: Bilirubin, GPT, GOT, alkaline phosphatase and total proteins. 1.) Physiological variations. Gaceta Veterinaria. 1977; 39(319): 178-82.

Grün E, Panndorf H, Schuhmacher U. Zum Vorkommen einiger Enzyme in der Gelenkflüssigkeit von Rind und Schwein. Arch Exp Veterinärmed. 1978; 32(6): 907-20.

Gul Y, Gründer HD. Results of liver function tests in abomasal displacement and ketosis of cattle. Dtsch Tierärztl Wochenschr. 1990 Mar; 97(3): 126-30.

Hadlich M, Kolb E. Untersuchungen über die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Blutserum, in der Galle und im Harn bei Rindern und Kälbern. Arch Exp Veterinärmed. 1973; 29:181-4.

Hammer G. Über das Verhalten der Serumspiegel von Transaminasen und alkalischer Phosphatase bei Hautkrankheiten [Dissertation med]. Bonn: Univ. Bonn; 1978.

Hathoff DE, Hardison WGM. Induced synthesis of alkaline phosphatase by bile acids in rat liver cell culture. *Gastroenterology*. 1979; 77: 1062-7.

Hidiroglou M, Thompson BK. Serum alkaline phosphatase activity in beef cattle. *Ann Rech Vet*. 1980; 11(4): 381-9.

Hoffmann-Blume E, Garcia Marengo MB, Ehle H, Bublitz R, Schulze M, Horn A. Evidence for glykosylphosphatidylinositol anchoring of intraluminal alkaline phosphatase of the calf intestine. *Eur J Biochem*. 1991 Jul 15; 199(2): 305-12.

Horney BS, Farmer AJ, Honor DJ, MacKenzie A, Burton S. Agarose gel electrophoresis of alkaline phosphatase isoenzymes in the serum of hyperthyroid cats. *Vet Clin Pathol*. 1994; 23(3): 98-102.

Hottenrott J. Untersuchungen zum Verhalten der alkalischen Phosphatase und ihrer Isoenzyme im Blutserum und in der Synovia von Jungmastbullen mit und ohne Skeletterkrankungen [Diplomarbeit med. vet]. Leipzig: Univ. Leipzig; 1972.

Imren HY. Serum alkaline phosphatase (ALP) activity in cattle with foreign body syndrome. *Veteriner Fakultesi Dergisi, Ankara Universitesi*. 1981; 28(1-4): 157-66.

Japundzic I, Kosaric B, Rakic-Stojiljkovic L. Microheterogeneity of rat serum alkaline phosphatase in fasting state: characterization of two duodenal alkaline phosphatase glycoforms. *Digestion*. 1997; 58(2): 181-8.

Kastner A. Untersuchungen zum Fettstoffwechsel und Endotoxin-Metabolismus bei Milchkühen vor dem Auftreten der Dislocatio abomasi [Dissertation med. vet]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2002.

Kazmierczak SC, Lott JA, Caldwell JH. Acute intestinal infarction or obstruction: search for better laboratory tests in an animal model. *Clin Chem*. 1988 Feb; 34(2): 281-8.

Keller P. Serumenzyme beim Rind: Organanalysen und Normalwerte. Schweiz Arch Tierheilk. 1971; 113(11): 615-26.

Khattab MJ. Isoenzyme der alkalischen Phosphatase aus menschlichen und tierischen Organen: Isolierung, biochemische und immunologische Charakterisierung [Dissertation chem]. Bochum: Univ. Bochum; 1976.

Khattab M, Pfeleiderer G. Alkaline phosphatase of human and calf small intestine. Purification and immunochemical characterization. Hoppe Seylers Z Physiol Chem. 1976 Mar; 357(3): 377-91.

Kim EE, Wyckhoff HW. Structure of alkaline phosphatases. Clin Chim Acta. 1989; 186: 175-88.

Kirchgessner M, Schwarz WA, Roth H. Zur Aktivität der alkalischen Phosphatase in Serum und Knochen von zinkdepletierten und –repletierten Kühen. 16.) Zum Stoffwechsel des Zinks im tierischen Organismus. Z Tierphysiol. 1975; 35(4): 191-200.

Kleiser L, Füll M. Screening zur Früherkennung einer Disposition für die Dislocation abomasi bei Kühen. In: Stoffwechselbelastung, -diagnostik und –stabilisierung beim Rind. Füll M, Hrsg. Leipzig. 1998; 95-104.

Knyrim S. Untersuchungen zu Einflussfaktoren in vivo auf die Aktivität der alkalischen Phosphatase bei Wiederkäuern sowie deren diagnostische Relevanz [Dissertation med. vet]. Leipzig: Univ. Leipzig; 1993.

Kolb E. Ein Beitrag zur Kenntnis der sauren und alkalischen Phosphatasen im Serum von Wiederkäuern. Arch Exp Veterinärmed. 1955; IX: Sonderabdruck.

Kolb E. Untersuchungen über die Aktivität und die Eigenschaften der alkalischen Phosphatase in Körperflüssigkeiten (Blutplasma, Blutserum, Galle) und in verschiedenen Organen (Niere, Leber, Dünndarm, Knochen) beim Rind. Arch Exp Veterinärmed. 1975; 29(5): 735-58.

Kolb E, Schmidt U. Untersuchungen über das Vorkommen von Isoenzymen der alkalischen Phosphatase in verschiedenen Geweben bei Rind und Schaf. Monatsh Veterinärmed. 1976; 31(14): 536-40.

Kolb E, Gebhardt G, Schmidt G, Wujanz G. Untersuchungen über die Höhe des Glukosegehaltes und über die Aktivität der GOT, der alkalischen Phosphatase und der Leuzinaminopetidase im Blutplasma bei Schweinen während der Mastperiode bei Verfütterung von mikrobiellem Rohprotein bzw. von Heferohprotein. Arch Exp Veterinärmed. 1982; 63: 417-28.

Komoda T, Sakagishi Y, Sekine T. Multiple forms of human intestinal alkaline phosphatase: chemical and enzymatic properties, and circulating clearance of the fast- and slow-moving enzymes. Clin Chim Acta. 1981 Dec; 117(2): 167-87.

Krautzig I, Dargel D, Hartmann D, Milnik H. Zum Verhalten einiger Enzymaktivitäten im Darmkanal von klinisch gesunden und durchfallkranken Kälbern sowie Ferkeln. Monatsh Veterinärmed. 1986; 41: 520-3.

Kuhl P, Baczako K, Stanescu A, Malfertheiner P. Loss of alkaline phosphatase activity in duodenal mucosa: a marker for precursors of gastric metaplasia? J Pathol. 1990 Dec; 162(2): 317-22.

Kwiatkowski T. Activity of alkaline phosphatase in healthy calves and in calves with diarrhea. Med Vet Lublin. 1964; 20: 291-3.

Lauwers H, Sebruyens M, Vos N de. Development of carboxylic esterase and alkaline phosphatase activity in the oesophagus, reticulum, rumen and omasum of cattle. Anat, Histol, Embryol. 1974; 3(4): 337-50.

Lehmann FG. Differentiation of human alkaline phosphatases by lectin binding affinity. Klin Wochenschr. 1980; 58: 947-51.

Leuthard P. Untersuchungen über die alkalische Kälberdarmphosphatase [Dissertation phys. chem]. Freiburg (Schweiz): Univ. Freiburg; 1976.

Levy JR, Murray E, Manolagus S, Olefsky JM. Demonstration of insulin receptors and modulation of alkaline phosphatase activity by insulin in rat osteoblastic cells. *Endocrinology*. 1986; 119: 1786-92.

Lewis LD, Phillips RW, Elliott CD. Changes in plasma glucose and lactate concentration and enzyme activities in the neonatal calf with diarrhea. *Am J Vet Res*. 1975 Apr; 36(4.1): 413-6.

Liebetrau R, Oetzel H, Rödiger W, Schröter J, Seidel H, Steitz J, Trommer E. Klinische und biochemische Untersuchungen an festliegenden Milchkühen. *Monatsh Veterinärmed*. 1975; 30:324.

Liersch R. Die Bestimmung der Aktivität der alkalischen Serumphosphatase in der Diagnostik der Erkrankungen des Säuglings- und Kindesalters [Dissertation med]. Düsseldorf: Univ. Düsseldorf; 1970.

Linscheer WG, Malagelada JR, Stolbach LL, Fishman WH. The effect of fatty acid perfusion on intestinal alkaline phosphatase. 1.) Studies on man. *Am J Digestive Diseases*. 1977; 22: 509-15.

Lorentz K. Katalytische Konzentration, multiple Formen und Lektinaffinität von mikrosomalen Enzymen menschlicher Gewebe. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1981; 19: 1181-7.

Manteuffel U von. Untersuchungen über den Einfluss verschiedener Fütterungs- und Haltungsfaktoren auf die Aktivität der alkalischen und sauren Phosphomonoesterasen im Blutserum von Kälbern und Bullen, sowie deren individuelle Veranlagung. *Giessener Schriftenreihe Tierzucht und Haustiergenetik*. 1972; 32.

Manteuffel U von. Untersuchungen über den Einfluß des Alters und der Fütterung auf die alkalische und saure Phosphatase im Blutserum von Kälbern. *Zentralbl Veterinärmed*. 1975; A 22: 209-14.

McLachlan R, Coakley J, Murton L, Campbell N. Plasma intestinal alkaline phosphatase isoenzymes in neonates with bowel necrosis. *J Clin Pathol.* 1993 Jul; 46(7): 654-9.

McSherry BJ, Lumsden JH, Valli VE, Baird JD. Hyperbilirubinemia in sick cattle. *Can J Comp Med.* 1984 Jul; 48(3): 237-40.

Miller ER, Ullrey DE, Zutant LL, Baltzer BV, Schmidt DA, Hoefer JA, Luecke RW. Calcium requirement of the baby pig. *J Nutr.* 1962; 77: 7-17.

Miura S, Asakura H, Morishita T, Hibi T, Munakata Y, Kobayishi K, Tsuchiya M. Changes in intestinal alkaline phosphatase activity in cholera toxin-treated rats. *Gut.* 1982 Jun; 23(6): 507-12.

Miura S, Yoshioka M, Hamada Y. Alkaline phosphatase of rat intestinal lymph: Its characterization and the effect of fat administration. *Clin Chim Acta.* 1989; 186: 239-48.

Miyazawa K, Tomoda I. Immunological investigation of intestinal, liver, kidney, bone, placental and serum alkaline phosphatase in cattle. *Nippon Juigaku Zasshi.* 1989 Apr; 51(2): 309-14.

Miyazawa K, Tomoda I. Electrophoretical analysis of serum ALP isoenzymes in neonatal calves. *J Vet Med Sci.* 1991 Oct; 53(5): 807-10.

Mössner E. Menschliche und tierische alkalische Phosphatasen: Isolierung, Immunologie und klinisch-chemische Anwendung [Dissertation chem]. Stuttgart: Univ. Stuttgart; 1981.

Mohanty KC, Mohanty BN, Ray SKH, Mohanty DN. Levels of glucose, calcium and alkaline phosphatase in blood with relation to retention of placenta in bovines. *Indian J Anim Reprod.* 1994; 15(1): 21-3.

Morales CR. Structural localization of alkaline phosphatase in the intestinal epithelium of the bovine with special reference to its enzymatic activity and electrophoretical properties. *Anat, Histol, Embryol.* 1980; 9(3): 198-208.

Morizono M, Kita T, Nishiyama S. Clinical studies on serum alkaline phosphatase in domestic animals. 1.) Measurement of total serum alkaline phosphatase activity in domestic animals. 2.) Detection of isoenzymes of serum alkaline phosphatase in domestic animals. *Bulletin of the Faculty of Agriculture Kagoshima University.* 1976; 26: 95-103, 105-112.

Moss DW. Alkaline phosphatase isoenzymes. *Clin Chem.* 1982; 28: 2007-16.

Moss DW. Diagnostic aspects of alkaline phosphatase and its isoenzymes. *Clin Biochem.* 1987; 20(4): 225-30.

Müller DS. Versuche zur Verbesserung der Isoenzym-Diagnostik am Beispiel der alkalischen Phosphatase und der Lactatdehydrogenase [Dissertation biol]. Stuttgart: Univ. Stuttgart; 1986.

Nanji AA. Decrease serum alkaline phosphatase activity in hypothyroidism: Possible relationship to low serum zinc and magnesium. *Clin Chem.* 1982; 28: 1711-2.

Palmer MV, Olsen SC. Hepatic lipidosis in pregnant captive American bison (Bison bison). *J Vet Diagn Invest.* 2002 Nov; 14(6): 512-5.

Pekarthy JM, Short J, Lansing AI, Liebermann I. Function and control of liver alkaline phosphatase. *J Biol Chem.* 1972; 247: 1767-74.

Peneva I, Goranov K. Changes in the serum enzymes and clinical and clinico-biochemical indices of cows with subclinical ketosis. *Vet Med Nauki.* 1984; 21(10): 28-36.

Peter AT, Bosu WT, MacWilliams P, Gallagher S. Peripartal changes in serum alkaline phosphatase activity and lactate dehydrogenase activity in dairy cows. Can J Vet Res. 1987 Oct; 51(4): 521-4.

Petzold M, Leukozytäre alkalische Phosphatase – Referenzwerte und klinische Bezüge bei Rindern [Dissertation med. vet]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2001.

Posen S. Alkaline phosphatase. Ann Internal Med. 1967; 67: 183-96.

Priboth W. Die derzeitigen Möglichkeiten zur Früh- und Differentialdiagnose der Osteopathien des Jungrindes und der Milchkuh. Tierhyg-Inf Sonderheft. 1978; 10: 119-28.

Price CP, Sammons HG. An interpretation of the serum alkaline phosphatase isoenzyme patterns in patients with obstructive liver disease. J Clin Pathol. 1976; 29(11): 976-80.

Rao KS, Seshagiri VN. Protein concentration and alkaline phosphatase activity in uterine flushing from cows affected with endometritis. Indian Vet J. 1998; 75(4): 369-70.

Rehage J, Mertens M, Stockhofe-Zurwieden N, Kaske M, Scholz H. Post surgical convalescence of dairy cows with left abomasal displacement in relation to fatty liver. Schweiz Arch Tierheilk. 1996; 138(7): 361-8.

Richter GH, Flachowski G, Ochrimenko WI, Geinitz D. Einfluss unterschiedlicher Ca- und P-Versorgung auf Stoffwechselfparameter von Hammeln und Bullen sowie auf die Mastleistung von Bullen bei Vitamin-D-Mangel. Arch Anim Nutr. 1989; 39: 345-59.

Roberts ED, Gallo TD, Mauer JH. Protein deficiency in swine and use of opaque-2 corn to prevent changes in bone: Light, fluorescence and microscopy study. Am J Vet Res. 1972; 33: 1985-93.

Roga-Franc M, Kosla T, Rokicki E. The effect of lead and zinc on the activity of the alkaline phosphatase in the blood serum of cows. *Annals of Warsaw Agricultural University SGGW AR, Veterinary Medicine*. 1993; 17: 73-8.

Rogers WA. Source of serum alkaline phosphatase in clinically normal and diseased dogs: A clinical study. *J Am Vet Med Assoc*. 1976; 168: 934-7.

Rosalski SB, Ying Foo A. Two new methods for separating and quantifying bone and liver alkaline phosphatase isoenzymes in plasma. *Clin Chem*. 1984; 30: 1182-6.

Rossow N. Erkrankungen der Leber und des Bauchfelles. In: Rossow N, Horvath Z (Hrsg). *Innere Krankheiten der landwirtschaftlichen Nutztiere*. 2. Auflage Jena: G. Fischer Verlag. 1988: 312-27.

Rudolph WG, Figuerosa AN, Zoccola CA, Godoy AF. Multiple forms of alkaline phosphatase in horse bone, liver, kidney, duodenum, caecum and serum separated by agarose gel electrophoresis with and without neuraminidase pre-treatment. *Vet Clin Pathol*. 1997; 26(4): 173-80.

Rukkwamsuk T, Kruip TA, Wensing T. Relationship between overfeeding and overconditioning in the dry period and the problems of high producing dairy cows during the postparturient period. *Vet Q*. 1999 Jun; 21(3): 71-7.

Rummer K. Nierenfunktionsuntersuchungen bei Kühen mit besonderer Berücksichtigung von Harnenzymen sowie der fraktionierten Elimination von Elektrolyten. Stoffwechselbelastung, -diagnostik und -stabilisierung beim Rind, Leipziger Samstagsakademie, Medizinische Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät Leipzig. 1998; 235-42.

Sanderink GJ, Artur Y, Paille F, Galteau MM, Siest G. Micro-scale-two dimensional electrophoresis of alkaline phosphatase from serum. *Clin Chem*. 1988 Apr; 34(4): 730-5.

Schotman AJK. The importance of clinical-chemical investigation for the veterinary practice. Tijdschr Diergeneesk. 1963; 88: 1640.

Schreiber WE, Whitta L. Alkaline phosphatase isoenzymes resolved by electrophoresis on lectin-containing agarose gel. Clin Chem. 1986; 32(8): 1570-3.

Shaker M, El-Hindi H, Amer H, Zaki S. Effect of in vitro addition of some metal ions on serum alkaline phosphatase in calves. Arch Exp Veterinärmed. 1988; 72: 628-35.

Shimizu E, Naito Y, Murakami D. Serum glutamic oxalacetic transaminase, glutamic pyruvic transaminase and alkaline phosphatase activities in Holstein cattle. Journal of the Faculty of Agriculture, Iwate University. 1972; 11(1): 37-50.

Slesinger, L. Die Aktivität der Phosphatasen im Blutserum der Nutztiere im Hinblick auf die Ernährung. Dtsch Tierärztl Wochenschr. 1968; 75: 518.

Stepan J, Graubaum HJ, Meurer W, Wagenknecht C. Isoenzymes of alkaline phosphatase – reference values in young people and effects of protein diet. Experientia. 1976; 32(7): 832-4.

Tardivel S, Rabesona F, Ladiharintsoa L, Dupuis Y. Effect of bivalent cations on alkaline phosphatase activity of intestinal microvilli. Influence of pH and substrate. Reprod Nutr Develop. 1987; 27: 641-8.

Tardivel S, Razanamaniraka L, Porembska Z, Crouzoulon G, Fournier P, Dupuis Y. Homodimer and heterodimer forms of adult rat intestinal alkaline phosphatase. Life Sci. 1988; 43(25): 2059-65.

Tardivel S, Banide H, Porembska Z, Dupuis Y, Aymard P, Lacour B. In vitro inhibition of alkaline phosphatase activities from intestine, bone, liver and kidney by phenobarbital. Enzyme. 1992; 46(6): 276-83.

Tasker JB. Reference values for clinical-chemistry using the coulter counter system. Cornell Vet. 1978; 68: 460-79.

Thomas L. Labor und Diagnose. 2. Aufl. Marburg / Lahn: Med Verlagsgesellschaft. 1984.

Thoren-Tolling K. Characterization of equine alkaline phosphatase isoenzymes by chemical inhibition and agarose gel electrophoresis. Zentralbl Veterinärmed A. 1988; 35: 1-12.

Toofanian F. Intestinal disaccharidase and alkaline phosphatase activities in experimental rabbit mucoid enteropathy. Lab Anim Sci. 1985 Dec; 35(6): 624-6.

Tuba J, Robinson MI. The response of intestinal alkaline phosphatase of fasted rats to forced feeding of rat. J Biol Chem. 1953; 203: 947-51.

Unakami S, Hirata M, Ichinohe K, Tanimoto Y, Iizuka H. Separation and quantification of serum alkaline phosphatase isoenzymes in the rat by affinity electrophoresis. Jikken Dobutsu. 1989 Jan; 38(1): 85-8.

Valdez CA, Martin RV Jr, Rayos AA, Marcial DB Jr. Serum aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, cholesterol and calcium values of locally raised Holstein-Sahiwal dairy cows: influence of lactation, pregnancy, age and parity. Philippine J Vet Med. 2002; 39: 21-5.

Van Hoof VO, Van Oosterom AT, Lepoutre LG, De Broe ME. Alkaline phosphatase isoenzyme patterns in malignant disease. Clin Chem. 1992; 38(12): 2546-51.

Van Hoof VO, Lepoutre LG, De Broe ME. Development and clinical use of a computer assisted decision support system for the interpretation of alkaline phosphatase isoenzyme patterns. Lab Med. 1994; 18: 558-63.

Vanlalngehta C, Gaswami J, Chakravarty P, Sarmah S. Serum alkaline phosphatase activity in pregnant cows. Indian Vet J. 2003; 80(3): 214-5.

Van Veen SQ, van Vliet AK, Wulferink M, Brands R, Boermeester MA, van Gulik TM. Bovine intestinal alkaline phosphatase attenuates the inflammatory response in secondary peritonitis in mice. *Infect Immun*. 2005 Jul; 73(7): 4309-14.

Vasilov B. Serum alkaline phosphatase and transaminase activity in cows with clinical ketosis. *Vet Med Nauki*. 1977; 14(4): 80-6.

Volek V, Stepan J. The source and clinical significance of alkaline phosphatase in liver disease. *Acta Univ Carol Med Monogr*. 1977; (78.2): 55-8.

Wada H, Yagami I, Niwa N, Hayakawa T, Tsuge H. Distribution and properties of rat intestinal alkaline phosphatase isoenzymes. *Exp Anim*. 2002 Jul; 51(4):416.

Warnes TW, Hine P, Kay G. Intestinal alkaline phosphatase in the diagnosis of liver disease. *Gut*. 1977 Apr; 18(4): 274-8.

West H. Effect on liver function of acetonaemia and the fat cow syndrome in cattle. *Res Vet Sci*. 1990 Mar; 48(2): 221-7.

Wolf PL. Clinical significance of serum high-molecular-mass alkaline phosphatase, alkaline phosphatase-lipoprotein-X-complex and intestinal variant alkaline phosphatase. *J Clin Lab Anal*. 1994; 8(3): 172-6.

Xia ZF, Wu GL, Liang LC, Jin JS, Fan GX. Study of vitamin D3 metabolism and osteomalacia in dairy cows. *Acta veterinaria et zootechnica sinica*. 1994; 25(2): 137-44.

Yilmaz K. Serum alkaline phosphatase activity in Turkish and crossbred cattle. *Veteriner Fakultesi Dergisi, Ankara Universitesi*. 1986; 33(2): 232-9.

Yin GR, Yang JY, Yao SZ, Li JH. Separation of dairy cow serum alkaline phosphatase isoenzymes and identification of its tissue of origin using polyacrylamide gel electrophoresis. *Acta veterinaria et zootechnica sinica*. 1993; 24(2): 125-9.

Yoshino K, Katho N, Takahashi K, Yuasa A. Purification of a protein from serum of cattle with hepatic lipidosis, and identification of the protein as haptoglobin. Am J Vet Res. 1992 Jun; 53(6): 951-6.

Zanker IA, Hammon HM, Blum JW. Activities of gamma-glutamyltransferase, alkaline phosphatase and aspartate-aminotransferase in colostrum, milk and blood plasma of calves fed first colostrum at 0-2, 6-7, 12-13 and 25-25 h after birth. J Vet Med A. 2001; 48(3): 179-85.

Anhang

Tabelle 15: Statistische Maßzahlen und signifikante Differenzen der Untersuchungen zum Zeitpunkt der Erkrankung und der Rekonvaleszenz

Status	statistische Maßzahlen	Leber-1-AP (U/l)	Leber-2-AP (U/l)	Knochen-AP (U/l)	intestinale AP (U/l)	AP (U/l)	GLDH (U/l)
Gesund (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(24) 68,0 ± 39,4 51,0 (44,3–91,8)	(24) 10,1 ± 6,4 8,9 (6,2–13,8)	(24) 28,5 ± 31,7 19,2 (9,6–35,2)	(25) 21,9 ± 8,5 22,7 (14,7–28,5)	(25) 133 ± 53 122 (96–157)	(25) 13,3 ± 7,8 10,5 (8,5–16,6)
krank (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(45) 68,1 ± 42,8 57,3 (36,1–82,9)	(45) 13,9 ± 22,2 5,5 (4,0–12,8)	(40) 15,6 ± 18,2 10,2 (5,6–19,1)	(81) 43,7 ± 45,3 28,2 (15,8–53,0)	(81) 137 ± 89 105 (77–167)	(81) 79,5 ± 113,5 42,8 (16,6–90,2)
Rekonvaleszenz (3)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(10) 64,1 ± 40,38 51,9 (35,1–91,9)	(10) 7,6 ± 4,8 8,6 (2,2–12,6)	(8) 20,1 ± 14,0 16,8 (9,0–33,8)	(21) 31,8 ± 23,5 24,2 (16,5–43,1)	(21) 124 ± 45 122 (92–155)	(21) 64,2 ± 76,9 34,4 (13,1–96,6)
Signifikanz ($p \leq 0,05$) zwischen den Krankheiten		n.s.	n.s.	1:2	1:2	n.s.	1:2,3

Status	statistische Maßzahlen	ASAT (U/l)	GGT (U/l)	Bilirubin (μmol/l)	GEW (g/l)	Harnstoff (mmol/l)
Gesund (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(25) 66,0 ± 18,3 62,2 (54,8–70,4)	(25) 27,0 ± 13,5 23,4 (18,6–29,3)	(25) 3,7 ± 1,4 3,5 (3,0–5,0)	(25) 78,7 ± 4,9 78,4 (74,3–83,2)	(24) 3,32 ± 0,71 3,28 (2,77–3,50)
krank (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(81) 151,8 ± 99,9 123,8 (84,2–187,8)	(81) 53,0 ± 49,7 35,4 (23,1–62,9)	(81) 14,2 ± 12,1 11,1 (6,4–19,4)	(81) 70,6 ± 11,0 68,3 (62,9–78,9)	(81) 7,30 ± 5,48 6,07 (3,69–8,23)
Rekonvaleszenz (3)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(21) 124,2 ± 79,9 106,1 (64,3–168,6)	(21) 49,3 ± 41,3 30,2 (20,6–68,0)	(21) 11,3 ± 6,4 9,7 (7,1–15,5)	(21) 65,8 ± 9,4 64,6 (59,1–68,4)	(21) 3,71 ± 1,72 3,57 (2,36–4,70)
Signifikanz ($p \leq 0,05$) zwischen den Krankheiten		1:2,3	1:2,3	1:2,3	1:2,3	1:2 2:3

Status	statistische Maßzahlen	BHB (mmol/l)	Cholesterol (mmol/l)	Calcium (mmol/l)	Phosphat (mmol/l)	Leukozyten (G/l)
gesund (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(25) 0,57 ± 0,58 0,44 (0,32–0,51)	(25) 4,96 ± 1,14 5,07 (3,91–5,88)	(25) 2,16 ± 0,13 2,15 (2,09–2,25)	(25) 1,76 ± 0,30 1,75 (1,54–2,04)	(24) 8,4 ± 1,8 8,3 (7,4–9,3)
krank (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(81) 0,72 ± 1,12 0,33 (0,14–0,83)	(81) 2,39 ± 1,51 1,96 (1,41–2,99)	(81) 1,69 ± 0,35 1,72 (1,51–1,95)	(81) 1,52 ± 0,55 1,45 (1,13–1,88)	(81) 8,7 ± 5,3 7,3 (5,2–11,3)
Rekonvaleszenz (3)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(21) 0,34 ± 0,17 0,28 (0,22–0,46)	(21) 1,95 ± 0,74 1,83 (1,50–2,59)	(21) 1,68 ± 0,30 1,69 (1,58–1,85)	(21) 1,35 ± 0,40 1,30 (1,08–1,61)	(21) 8,5 ± 5,5 6,4 (4,8–11,4)
Signifikanz ($p \leq 0,05$) zwischen den Krankheiten		1:2 2:3	1:2,3	1:2,3	1:2,3	n.s.

Legende: n.s. = $p > 0,05$, d.h. nicht signifikant
1:2 = 1 signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von **2**

Tabelle 16: Statistische Maßzahlen und signifikante Differenzen der Untersuchungen bei den in Gruppen eingeteilten Krankheitskomplexen

Komplex	statistische Maßzahlen	Leber-AP 1 (U/l)	Leber-AP 2 (U/l)	Knochen-AP (U/l)	intestinale AP (U/l)	AP (U/l)	GLDH (U/l)
gesund (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(33) 68,2 ± 39,0 52,0 (41,0-91,0)	(33) 9,5 ± 6,0 8,9 (5,1-12,8)	(31) 26,0 ± 28,7 19,1 (9,5-33,4)	(45) 26,1 ± 17,7 22,7 (15,6-30,6)	(45) 129 ± 50 122 (96-155)	(45) 36,6 ± 58,2 14,1 (9,8-35,3)
LMV li (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(21) 66,0 ± 45,1 55,1 (34,3-77,0)	(21) 7,1 ± 5,1 5,2 (3,3-9,5)	(18) 18,9 ± 13,9 16,1 (7,6-27,2)	(33) 33,7 ± 25,9 28,9 (15,9-37,8)	(33) 120 ± 61 102 (77-144)	(33) 81,3 ± 114,2 34,4 (16,3-108,9)
LMV re (3)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(6) 102,4 ± 53,3 87,6 (57,0-162,0)	(6) 18,4 ± 20,1 13,5 (3,1-30,7)	(5) 5,9 ± 3,2 5,5 (3,1-8,9)	(22) 44,4 ± 38,9 23,5 (15,7-69,7)	(22) 145 ± 82 129 (89-175)	(22) 128,6 ± 151,7 73,2 (42,1-144,4)
akute Entzündungen (4)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(19) 57,2 ± 31,8 50,5 (30,6-81,1)	(19) 19,6 ± 31,2 4,9 (4,8-21,3)	(18) 16,2 ± 23,6 9,9 (3,2-16,9)	(27) 55,0 ± 63,2 34,5 (14,1-50,8)	(27) 150 ± 117 105 (74-153)	(27) 35,5 ± 32,2 21,0 (11,4-55,2)
Signifikanz ($p \leq 0,05$) zwischen den Komplexgruppen		n.s.	n.s.	1:3,4 2:3	n.s.	n.s.	1:2,3 3:4

Komplex	statistische Maßzahlen	ASAT (U/l)	GGT (U/l)	Bilirubin ($\mu\text{mol/l}$)	GEW (g/l)	Harnstoff (mmol/l)
gesund (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(45) 92,3 ± 63,0 66,1 (57,5-97,3)	(45) 37,6 ± 31,6 25,3 (19,7-44,4)	(45) 7,1 ± 5,9 5,1 (3,2-9,4)	(45) 72,9 ± 9,8 74,1 (65,0-81,0)	(44) 3,50 ± 1,30 3,28 (2,64-4,26)
LMV li (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(33) 162,7 ± 98,7 123,1 (92,5-226,9)	(33) 49,1 ± 47,6 30,9 (20,7-55,2)	(33) 16,1 ± 12,6 12,2 (8,8-22,1)	(33) 75,3 ± 10,4 75,6 (66,6-81,5)	(33) 4,86 ± 1,92 4,51 (3,47-6,19)
LMV re (3)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(22) 144,8 ± 66,1 145,5 (95,1-200,1)	(22) 65,5 ± 41,0 54,9 (35,2-82,3)	(22) 13,0 ± 9,5 11,1 (4,9-20,9)	(22) 64,8 ± 9,8 64,4 (58,3-70,2)	(22) 8,57 ± 5,02 7,05 (5,75-10,84)
akute Entzündungen (4)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(27) 142,5 ± 122,3 120,4 (68,7-168,7)	(27) 46,4 ± 57,4 31,9 (18,5-46,8)	(27) 12,8 ± 13,2 9,9 (5,9-14,6)	(27) 69,5 ± 10,1 67,0 (62,6-75,4)	(27) 9,12 ± 7,45 7,31 (3,39-9,85)
Signifikanz ($p \leq 0,05$) zwischen den Komplexgruppen		1:2,3,4	1:3 2:3 3:4	1:2,3,4	1:3 2:4	1:2,3,4 2:3,4

Anhang

Komplex	statistische Maßzahlen	BHB (mmol/l)	Cholesterol (mmol/l)	Calcium (mmol/l)	Phosphat (mmol/l)	Leukozyten (G/l)
gesund (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(45) $0,47 \pm 0,46$ 0,36 (0,27-0,48)	(45) $3,63 \pm 1,80$ 3,45 (1,85-5,37)	(45) $1,96 \pm 0,32$ 2,06 (1,78-2,17)	(45) $1,60 \pm 0,38$ 1,60 (1,34-1,83)	(44) $8,4 \pm 3,9$ 8,2 (6,0-9,4)
LMV li (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(33) $1,08 \pm 1,52$ 0,45 (0,27-1,08)	(33) $2,38 \pm 1,42$ 1,86 (1,44-3,07)	(33) $1,76 \pm 0,35$ 1,81 (1,53-2,02)	(33) $1,29 \pm 0,50$ 1,22 (0,94-1,60)	(33) $7,8 \pm 3,0$ 7,0 (5,6-9,3)
LMV re (3)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(22) $0,46 \pm 0,44$ 0,21 (0,11-0,74)	(22) $2,02 \pm 0,88$ 1,92 (1,43-2,21)	(22) $1,65 \pm 0,21$ 1,61 (1,52-1,71)	(22) $1,76 \pm 0,45$ 1,70 (1,48-2,14)	(22) $8,5 \pm 4,1$ 7,2 (5,7-10,9)
akute Entzündungen (4)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(27) $0,48 \pm 0,76$ 0,24 (0,14-0,46)	(27) $2,70 \pm 1,92$ 2,09 (1,36-4,30)	(27) $1,61 \pm 0,42$ 1,72 (1,17-1,94)	(27) $1,55 \pm 0,60$ 1,41 (1,19-1,89)	(27) $10,2 \pm 7,6$ 8,9 (4,2-13,4)
Signifikanz ($p \leq 0,05$) zwischen den Komplexgruppen		2:4	1:2,3	1:3,4	2:3	n.s.

Legende: n.s. = $p > 0,05$, d.h. nicht signifikant
 1:2 = 1 signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von 2

Tabelle 17: Statistische Maßzahlen und signifikante Differenzen der Untersuchungen bei den einzelnen Erkrankungen

Krankheit	statistische Maßzahlen	Leber-AP 1 (U/l)	Leber-AP 2 (U/l)	Knochen-AP (U/l)	intestinale AP (U/l)	AP (U/l)	GLDH (U/l)
gesund (1)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(33) 68,2 ± 39,0 52,0 (41,0-91,5)	(33) 9,5 ± 6,0 8,9 (5,1-12,8)	(31) 26,0 ± 28,7 19,1 (9,5-33,4)	(45) 26,1 ± 17,7 22,7 (15,6-30,6)	(45) 129 ± 50 122 (96-155)	(45) 36,6 ± 58,2 14,1 (9,8-35,3)
LMV li (2)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(21) 66,0 ± 45,1 55,1 (34,3-77,0)	(21) 7,1 ± 5,1 5,2 (3,3-9,5)	(18) 18,9 ± 13,9 16,1 (7,6-27,2)	(33) 33,7 ± 25,9 28,9 (15,9-37,8)	(33) 120 ± 61 102 (77-144)	(33) 81,3 ± 114,2 34,4 (16,3-108,9)
LMV re (3)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(6) 102,4 ± 53,3 87,7 (57,0-162,0)	(6) 18,4 ± 20,1 13,5 (3,1-30,7)	(5) 5,9 ± 3,2 5,5 (3,1-8,9)	(22) 44,4 ± 38,9 23,5 (15,7-69,7)	(22) 145 ± 82 129 (89-175)	(22) 128,6 ± 151,7 73,2 (42,1-144,4)
Enteritis (4)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(6) 58,9 ± 25,8 56,4 (34,3-80,9)	(6) 10,4 ± 12,1 4,9 (4,2-17,1)	(6) 17,2 ± 9,3 12,7 (10,4-27,2)	(6) 65,1 ± 86,3 42,0 (9,5-100,5)	(6) 152 ± 127 108 (77-210)	(6) 56,4 ± 46,7 52,0 (9,8-108,2)
Ileus (5)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(5) 79,3 ± 43,4 81,1 (40,9-116,9)	(5) 53,9 ± 46,7 43,8 (16,0-96,8)	(4) 27,3 ± 49,7 3,1 (1,7-77,2)	(6) 99,4 ± 79,5 71,4 (32,2-196,3)	(6) 233 ± 163 222 (82-366)	(6) 17,7 ± 17,7 10,6 (6,4-28,8)
Labmagen- ulcera, -ileus (6)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(3) 27,6 ± 4,6 27,2 (23,2-32,4)	(3) 4,6 ± 0,8 4,3 (3,9-5,5)	(3) 17,1 ± 15,9 10,1 (5,8-35,3)	(6) 27,1 ± 11,9 28,2 (13,9-37,5)	(6) 117 ± 62 98 (76-146)	(6) 37,8 ± 24,8 37,4 (16,0-59,4)
Endometritis / Mastitis (7)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(3) 54,9 ± 30,1 45,6 (30,6-88,6)	(3) 4,4 ± 0,8 4,8 (3,5-4,9)	(3) 5,1 ± 3,9 5,7 (1,0-8,7)	(7) 44,5 ± 46,1 25,9 (18,0-50,8)	(7) 127 ± 99 105 (61-153)	(7) 30,4 ± 31,7 17,4 (11,7-30,3)
Signifikanz ($p \leq 0,05$) zwischen den Krankheitskomplexen		n.s.	1:5,6,7 2:5,6 4:5,6,7 5:6,7	1:3,4,5,7 2:3,4 3:4	1:5	n.s.	1:2,3 2:5 3:5,7

Anhang

Krankheit	statistische Maßzahlen	ASAT (U/l)	GGT (U/l)	Bilirubin (µmol/l)	GEW (g/l)	Harnstoff (mmol/l)
gesund (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(45) 92,3 ± 63,0 66,1 (57,5-97,3)	(45) 37,6 ± 31,6 25,3 (19,7-44,4)	(45) 7,1 ± 5,9 5,1 (3,2-9,4)	(45) 72,9 ± 9,8 74,1 (65,0-81,0)	(44) 3,50 ± 1,30 3,28 (2,64-4,26)
LMV li (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(33) 162,7 ± 98,7 123,1 (92,5-226,9)	(33) 49,1 ± 47,6 30,9 (20,7-55,2)	(33) 16,1 ± 12,6 12,2 (8,8-22,1)	(33) 75,3 ± 10,4 75,6 (66,6-81,5)	(33) 4,86 ± 1,92 4,51 (3,47-6,19)
LMV re (3)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(22) 144,8 ± 66,1 145,5 (95,1-200,1)	(22) 65,5 ± 41,0 54,9 (35,2-82,3)	(22) 13,0 ± 9,5 11,1 (4,9-20,9)	(22) 64,8 ± 9,8 64,4 (58,3-70,2)	(22) 8,57 ± 5,02 7,05 (5,75-10,84)
Enteritis (4)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(6) 100,7 ± 48,2 96,9 (51,8-155,1)	(6) 29,9 ± 8,6 29,9 (23,5-38,4)	(6) 9,5 ± 5,1 10,3 (4,4-12,8)	(6) 71,1 ± 7,9 68,7 (65,1-77,7)	(6) 6,63 ± 2,04 7,18 (4,82-8,29)
Ileus (5)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(6) 217,7 ± 220,3 156,8 (66,6-326,7)	(6) 80,9 ± 111,6 42,7 (15,6-124,9)	(6) 26,2 ± 23,7 18,5 (5,8-53,5)	(6) 60,2 ± 4,1 60,4 (56,7-63,4)	(6) 16,43 ± 11,28 16,29 (5,86-28,03)
Labmagen- ulcera, -ileus (6)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(6) 109,2 ± 54,6 104,7 (57,3-159,0)	(6) 50,2 ± 46,0 33,1 (23,1-73,5)	(6) 6,8 ± 3,3 7,0 (3,4-9,8)	(6) 69,3 ± 11,8 66,9 (60,7-78,5)	(6) 8,09 ± 3,01 8,08 (5,93-10,47)
Endometritis / Mastitis (7)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(7) 160,5 ± 92,3 140,8 (82,7-178,2)	(7) 33,0 ± 14,6 33,6 (18,5-46,8)	(7) 11,1 ± 3,4 11,1 (8,8-14,6)	(7) 76,7 ± 10,5 75,4 (67,0-88,6)	(7) 7,65 ± 6,89 6,22 (1,87-13,80)
Signifikanz ($p \leq 0,05$) zwischen den Krankheitskomplexen		1:2,3,7	1:3 2:3 3:4,7	1:2,3,5,7 2:6	1:5 2:3,5 3:7 5:7	1:2,3,4,5,6

Anhang

Krankheit	statistische Maßzahlen	BHB (mmol/l)	Cholesterol (mmol/l)	Calcium (mmol/l)	Phosphat (mmol/l)	Leukozyten (G/l)
gesund (1)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(45) $0,47 \pm 0,46$ 0,36 (0,27-0,48)	(45) $3,63 \pm 1,80$ 3,45 (1,85-5,37)	(45) $1,96 \pm 0,32$ 2,06 (1,78-2,17)	(45) $1,60 \pm 0,38$ 1,60 (1,34-1,83)	(44) $8,4 \pm 3,9$ 8,2 (6,0-9,4)
LMV li (2)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(33) $1,08 \pm 1,52$ 0,45 (0,27-1,08)	(33) $2,38 \pm 1,42$ 1,86 (1,44-3,07)	(33) $1,76 \pm 0,35$ 1,81 (1,53-2,02)	(33) $1,29 \pm 0,50$ 1,22 (0,94-1,60)	(33) $7,8 \pm 3,0$ 7,0 (5,6-9,3)
LMV re (3)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(22) $0,46 \pm 0,44$ 0,21 (0,11-0,74)	(22) $2,02 \pm 0,88$ 1,92 (1,43-2,21)	(22) $1,65 \pm 0,21$ 1,61 (1,52-1,71)	(22) $1,76 \pm 0,45$ 1,70 (1,48-2,14)	(22) $8,5 \pm 4,1$ 7,2 (5,7-10,9)
Enteritis (4)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(6) $0,95 \pm 1,48$ 0,44 (0,21-1,35)	(6) $3,03 \pm 1,40$ 2,37 (1,99-4,53)	(6) $1,82 \pm 0,36$ 1,88 (1,59-2,13)	(6) $1,97 \pm 0,58$ 1,86 (1,47-2,54)	(6) $11,3 \pm 10,4$ 8,8 (4,4-15,0)
Ileus (5)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(6) $0,17 \pm 0,17$ 0,12 (0,06-0,25)	(6) $1,38 \pm 0,73$ 1,36 (0,60-2,15)	(6) $1,29 \pm 0,32$ 1,28 (1,06-1,56)	(6) $1,24 \pm 0,49$ 1,29 (0,78-1,57)	(6) $14,9 \pm 9,2$ 12,8 (9,0-24,7)
Labmagen- ulcera, -ileus (6)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(6) $0,25 \pm 0,15$ 0,28 (0,09-0,36)	(6) $4,35 \pm 2,72$ 4,34 (1,38-6,93)	(6) $1,81 \pm 0,44$ 1,88 (1,53-2,12)	(6) $1,53 \pm 0,61$ 1,33 (1,15-1,86)	(6) $9,5 \pm 5,4$ 8,0 (4,9-15,1)
Endometritis / Mastitis (7)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(7) $0,50 \pm 0,44$ 0,34 (0,17-0,82)	(7) $1,96 \pm 1,39$ 1,65 (0,83-3,21)	(7) $1,50 \pm 0,44$ 1,61 (1,06-1,79)	(7) $1,56 \pm 0,70$ 1,38 (0,96-2,01)	(7) $7,1 \pm 4,9$ 4,7 (3,3-11,8)
Signifikanz ($p \leq 0,05$) zwischen den Krankheitskomplexen		1:5 2:5 4:5 5:7	1:2,3,5	1:3,5	1:2	n.s.

Legende: n.s. = $p > 0,05$, d.h. nicht signifikant
1:2 = 1 signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von **2**

Tabelle 18: Statistische Maßzahlen und signifikante Differenzen der Untersuchungen bei Patienten mit Leberbelastung

Komplex	statistische Maßzahlen	Leber-1-AP (U/l)	Leber-2-AP (U/l)	Knochen-AP (U/l)	intestinale AP (U/l)	AP (U/l)	GLDH (U/l)
gesund (1)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(24) $68,0 \pm 39,4$ 51,0 (44,3-91,8)	(24) $10,1 \pm 6,4$ 8,9 (6,2-13,8)	(24) $28,5 \pm 31,7$ 19,2 (9,8-35,2)	(25) $21,9 \pm 8,5$ 22,7 (14,7-28,5)	(25) 133 ± 53 122 (96-157)	(25) $13,3 \pm 7,8$ 10,5 (8,5-16,6)
krank (2)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(14) $96,0 \pm 60,5$ 78,4 (43,1-157,7)	(14) $12,0 \pm 14,4$ 6,9 (3,5-17,0)	(14) $20,5 \pm 19,1$ 11,2 (6,7-39,1)	(14) $23,5 \pm 24,5$ 15,6 (8,2-33,1)	(14) 152 ± 94 112 (81-225)	(14) $214,9 \pm 196,0$ 199,0 (54,4-306,5)
Rekon- valeszenz (3)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(6) $135,3 \pm 110,6$ 112,2 (56,9-198,9)	(6) $11,7 \pm 11,6$ 7,6 (5,2-18,3)	(6) $29,0 \pm 21,0$ 24,1 (12,6-42,4)	(6) $29,8 \pm 30,9$ 15,8 (13,8-45,2)	(6) 206 ± 171 162 (90-294)	(6) $130,4 \pm 75,6$ 113,1 (59,8-216,2)
Ex. letalis (4)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(9) $219,6 \pm 295,8$ 116,5 (98,5-170,4)	(9) $17,3 \pm 27,4$ 7,2 (5,1-16,0)	(7) $39,1 \pm 35,4$ 26,3 (13,4-85,6)	(9) $37,6 \pm 35,7$ 18,7 (12,6-62,0)	(9) 305 ± 362 178 (139-321)	(9) $292,6 \pm 567,4$ 99,3 (71,2-541,8)
Signifikanz ($p \leq 0,05$) zwischen den Komplexen		1:4	n.s.	n.s.	n.s.	1:4	1:2,3,4

Anhang

Komplex	statistische Maßzahlen	ASAT (U/l)	GGT (U/l)	ALAT (U/l)	Bilirubin (µmol/l)	GEW (g/l)	Harnstoff (mmol/l)
gesund (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(25) 66,0 ± 18,3 62,2 (54,8-70,4)	(25) 27,0 ± 13,5 23,4 (18,6-29,3)	(24) 16,0 ± 4,0 15,4 (12,8-17,7)	(25) 3,7 ± 1,4 3,5 (3,0-5,0)	(25) 78,7 ± 4,9 78,4 (74,3-83,2)	(24) 3,32 ± 0,71 3,28 (2,77-3,50)
krank (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(14) 209,8 ± 72,7 197,0 (172,0-253,8)	(14) 100,8 ± 75,7 81,3 (31,8-159,0)	(14) 15,4 ± 3,9 14,9 (12,9-16,8)	(14) 19,3 ± 16,1 13,7 (9,6-23,9)	(14) 76,0 ± 7,3 78,8 (72,7-81,8)	(14) 4,84 ± 1,67 5,15 (3,14-6,45)
Rekonvaleszenz (3)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(6) 159,2 ± 55,4 145,6 (116,3-198,8)	(6) 139,2 ± 101,2 129,0 (48,1-217,5)	(6) 11,8 ± 1,2 11,6 (11,1-12,7)	(6) 13,7 ± 5,7 12,5 (8,8-19,8)	(6) 72,2 ± 4,8 72,8 (67,5-76,4)	(6) 3,95 ± 1,45 4,30 (2,46-4,96)
Ex. letalis (4)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(9) 379,1 ± 324,2 278,1 (157,4-541,8)	(9) 312,3 ± 642,4 102,2 (58,6-183,6)	(9) 25,0 ± 18,0 18,0 (12,5-39,0)	(9) 36,3 ± 35,5 20,5 (15,3-51,5)	(9) 76,4 ± 7,6 76,0 (69,5-80,7)	(9) 4,49 ± 2,52 4,17 (2,44-6,71)
Signifikanz ($p \leq 0,05$) zwischen den Komplexen		1:2,3,4	1:2,3,4	1:3 3:2,4	1:2,3,4	n.s.	1:2,3

Komplex	statistische Maßzahlen	BHB (mmol/l)	Cholesterol (mmol/l)	Calcium (mmol/l)	Phosphat (mmol/l)	Leukozyten (G/l)
gesund (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(25) 0,57 ± 0,58 0,44 (0,32-0,51)	(25) 4,96 ± 1,14 5,07 (3,91-5,88)	(25) 2,16 ± 0,13 2,15 (2,09-2,25)	(25) 1,76 ± 0,30 1,75 (1,54-2,04)	(24) 8,4 ± 1,8 8,3 (7,4-9,3)
krank (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(14) 2,15 ± 2,41 0,98 (0,46-4,52)	(14) 2,92 ± 1,30 2,82 (1,88-3,61)	(14) 1,88 ± 0,23 1,90 (1,71-2,14)	(14) 1,41 ± 0,46 1,28 (1,13-1,56)	(14) 8,8 ± 3,6 7,7 (5,8-12,3)
Rekonvaleszenz (3)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(6) 0,57 ± 0,22 0,54 (0,39-0,80)	(6) 3,46 ± 1,41 2,90 (2,52-4,41)	(6) 1,94 ± 0,13 1,91 (1,82-2,05)	(6) 1,47 ± 0,40 1,36 (1,21-1,71)	(6) 4,0 ± 2,2 4,4 (2,7-5,9)
Ex. letalis (4)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(9) 2,57 ± 3,26 1,67 (0,29-4,80)	(9) 2,83 ± 2,67 1,89 (1,39-2,84)	(9) 2,00 ± 0,31 2,02 (1,81-2,2)	(9) 1,37 ± 0,38 1,49 (1,04-1,63)	(9) 7,3 ± 3,4 5,9 (5,0-9,6)
Signifikanz ($p \leq 0,05$) zwischen den Komplexen		1:2	1:2,3,4	1:2,3	1:2,3,4	1:3 2:3

Legende: n.s. = $p > 0,05$, d.h. nicht signifikant
1:2 = 1 signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von **2**

Anhang

Tabelle 19: Statistische Maßzahlen und signifikante Differenzen der Untersuchungen bei Patienten mit einer AP-Aktivität ≥ 300 U/l

Gruppe	statistische Maßzahlen	Leber-1-AP (U/l)	Leber-2-AP (U/l)	Knochen-AP (U/l)	intestinale AP (U/l)	GLDH (U/l)
AP < 300 U/l (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(75) 66,1 \pm 41,1 53,7 (36,6-78,2)	(75) 9,0 \pm 8,0 7,2 (4,0-12,4)	(68) 19,5 \pm 22,0 12,7 (7,9-25,8)	(120) 30,5 \pm 23,1 24,8 (15,2-35,7)	(120) 62,6 \pm 96,9 28,4 (11,5-71,6)
AP ≥ 300 U/l (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(9) 243,2 \pm 296,3 134,7 (90,7-266,3)	(9) 48,8 \pm 39,4 34,3 (19,9-77,2)	(9) 48,8 \pm 40,7 51,1 (3,0-89,5)	(14) 151,2 \pm 136,3 106,5 (86,7-196,3)	(14) 357,6 \pm 607,6 105,1 (14,6-346,6)
Signifikanz ($p \leq 0,05$) zwischen den Gruppen		1:2	1:2	n.s.	1:2	1:2

Gruppe	statistische Maßzahlen	ASAT (U/l)	GGT (U/l)	Bilirubin (μ mol/l)	GEW (g/l)	Harnstoff (mmol/l)
AP < 300 U/l (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(120) 124,1 \pm 77,5 98,9 (65,4-162,7)	(120) 44,9 \pm 38,5 30,7 (20,7-50,7)	(120) 10,8 \pm 9,3 8,9 (3,8-15,1)	(120) 71,9 \pm 10,5 72,4 (64,2-80,7)	(119) 5,35 \pm 3,54 4,42 (2,94-6,77)
AP ≥ 300 U/l (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(14) 452,9 \pm 452,7 290,3 (121,0-667,9)	(14) 274,4 \pm 516,7 86,4 (45,2-303,8)	(14) 40,1 \pm 39,6 24,2 (11,3-55,6)	(14) 70,3 \pm 11,5 68,7 (61,7-78,0)	(14) 12,66 \pm 10,62 8,55 (4,21-21,80)
Signifikanz ($p \leq 0,05$) zwischen den Gruppen		1:2	1:2	1:2	n.s.	1:2

Gruppe	statistische Maßzahlen	BHB (mmol/l)	Cholesteroll (mmol/l)	Calcium (mmol/l)	Phosphat (mmol/l)	Leukozyten (G/l)
AP < 300 U/l (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(120) 0,64 \pm 0,96 0,35 (0,20-0,64)	(120) 2,91 \pm 1,72 2,42 (1,57-3,97)	(120) 1,79 \pm 0,36 1,82 (1,59-2,10)	(120) 1,53 \pm 0,49 1,51 (1,17-1,84)	(119) 8,1 \pm 4,0 7,6 (5,4-9,6)
AP ≥ 300 U/l (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(14) 1,32 \pm 2,42 0,42 (0,16-1,11)	(14) 2,28 \pm 2,40 1,36 (1,03-2,62)	(14) 1,87 \pm 0,57 1,74 (1,54-2,11)	(14) 1,58 \pm 0,55 1,44 (1,28-1,95)	(14) 16,0 \pm 11,7 13,6 (6,8-21,0)
Signifikanz ($p \leq 0,05$) zwischen den Gruppen		n.s.	1:2	n.s.	n.s.	1:2

Legende: n.s. = $p > 0,05$, d.h. nicht signifikant
1:2 = 1 signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von 2

Anhang

Tabelle 20: Statistische Maßzahlen und signifikante Differenzen der Untersuchungen bei geheilten Patienten mit LMV li zum Zeitpunkt der Aufnahme und Entlassung

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	Leber-1-AP (U/l)	Leber-2-AP (U/l)	Knochen-AP (U/l)	intestinale AP (U/l)	AP (U/l)	GLDH (U/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(8) 84,0 ± 43,8 71,8 (55,8-125,7)	(8) 9,2 ± 6,4 7,0 (4,4-13,2)	(6) 18,8 ± 18,0 13,1 (7,0-27,9)	(11) 39,8 ± 28,0 30,1 (18,2-72,7)	(11) 142 ± 60 109 (98-165)	(11) 127,4 ± 168,4 50,7 (19,2-208,3)
Entlassung (2)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(8) 84,2 ± 47,8 72,7 (48,2-101,3)	(8) 9,2 ± 4,1 9,0 (7,3-12,3)	(8) 17,8 ± 12,4 13,7 (9,0-31,5)	(11) 27,8 ± 20,0 24,2 (16,1-35,2)	(11) 133 ± 44 133 (102-157)	(11) 95,1 ± 92,2 51,0 (20,2-194,0)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Entlassung		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	ASAT (U/l)	GGT (U/l)	Bilirubin (µmol/l)	GEW (g/l)	Harnstoff (mmol/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(11) 201,4 ± 129,7 123,8 (86,4-270,8)	(11) 55,2 ± 42,8 35,4 (27,2-86,9)	(11) 18,0 ± 8,0 19,0 (10,0-25,5)	(11) 74,8 ± 11,0 78,8 (64,3-84,5)	(11) 5,57 ± 2,23 5,57 (3,37-7,43)
Entlassung (2)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(11) 175,5 ± 100,7 138,2 (109,2-256,3)	(11) 62,2 ± 49,4 50,2 (25,3-96,1)	(11) 14,1 ± 8,4 10,4 (7,2-21,5)	(11) 69,0 ± 8,8 66,7 (64,1-75,0)	(11) 4,75 ± 1,83 4,56 (2,97-6,56)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Entlassung		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	BHB (mmol/l)	Cholesterol (mmol/l)	Calcium (mmol/l)	Phosphat (mmol/l)	Leukozyten (G/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(11) 1,77 ± 2,24 0,56 (0,32-3,63)	(11) 2,33 ± 1,26 1,67 (1,06-3,82)	(11) 1,62 ± 0,37 1,66 (1,48-1,88)	(11) 1,45 ± 0,60 1,37 (0,94-1,94)	(11) 8,2 ± 3,7 7,7 (5,2-11,1)
Entlassung (2)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(11) 0,43 ± 0,25 0,45 (0,21-0,65)	(11) 2,21 ± 0,70 2,53 (1,57-2,63)	(11) 1,75 ± 0,29 1,83 (1,61-2,02)	(11) 1,32 ± 0,36 1,30 (1,08-1,60)	(11) 7,6 ± 3,2 6,4 (5,3-10,1)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Entlassung		1:2	n.s.	1:2	n.s.	n.s.

Legende: n.s. = d.h. nicht signifikant, $p > 0,05$
1:2 = 1 ist signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von **2**

Anhang

Tabelle 21: Statistische Maßzahlen und signifikante Differenzen der Untersuchungen bei geheilten Patienten mit LMV re zum Zeitpunkt der Aufnahme und Entlassung

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	Leber-1-AP (U/l)	Leber-2-AP (U/l)	Knochen-AP (U/l)	intestinale AP (U/l)	AP (U/l)	GLDH (U/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(1) 43,3 ± 0 43,3	(1) 1,4 ± 0 1,4	(1) 7,1 ± 0 7,1	(5) 39,2 ± 46,0 23,0 (14,1-72,4)	(5) 104 ± 64 61 (56-174)	(5) 43,2 ± 19,3 45,0 (24,5-61,0)
Entlassung (2)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(1) 28,5 ± 0 28,5	(1) 1,7 ± 0 1,7	(1) 19,3 ± 0 19,3	(5) 30,1 ± 20,5 29,4 (12,0-48,6)	(5) 99 ± 59 64 (59-158)	(5) 43,5 ± 39,6 32,7 (13,9-78,6)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Entlassung				n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	ASAT (U/l)	GGT (U/l)	Bilirubin (μmol/l)	GEW (g/l)	Harnstoff (mmol/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(5) 124,7 ± 43,8 119,7 (83,7-168,2)	(5) 46,9 ± 23,4 44,5 (25,2-69,9)	(5) 17,7 ± 11,7 20,4 (5,9-28,1)	(5) 65,5 ± 16,2 60,5 (51,0-82,5)	(5) 8,01 ± 4,81 7,22 (3,43-12,98)
Entlassung (2)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(5) 116,6 ± 50,1 106,5 (69,4-168,6)	(5) 54,8 ± 25,6 44,3 (33,1-81,8)	(5) 10,9 ± 6,4 11,9 (5,1-16,2)	(5) 63,1 ± 9,4 62,5 (55,1-71,5)	(5) 2,96 ± 2,13 2,47 (1,53-4,63)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Entlassung		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1:2

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	BHB (mmol/l)	Cholesterol (mmol/l)	Calcium (mmol/l)	Phosphat (mmol/l)	Leukozyten (G/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(5) 0,53 ± 0,39 0,60 (0,17-0,87)	(5) 2,40 ± 1,50 1,91 (1,28-3,76)	(5) 1,64 ± 0,22 1,55 (1,51-1,82)	(5) 1,37 ± 0,38 1,40 (1,04-1,69)	(5) 6,2 ± 3,2 4,5 (4,2-9,0)
Entlassung (2)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(5) 0,26 ± 0,16 0,28 (0,11-0,41)	(5) 2,26 ± 0,83 1,86 (1,70-3,03)	(5) 1,82 ± 0,10 1,81 (1,73-1,91)	(5) 1,46 ± 0,25 1,46 (1,22-1,70)	(5) 9,1 ± 3,8 9,3 (5,3-12,8)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Entlassung		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Legende: n.s. = d.h. nicht signifikant, $p > 0,05$
1:2 = 1 ist signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von **2**

Anhang

Tabelle 22: Statistische Maßzahlen und signifikante Differenzen der Untersuchungen bei verstorbenen Patienten mit LMV re zum Zeitpunkt der Aufnahme und des Exitus letalis

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	Leber-1-AP (U/l)	Leber-2-AP (U/L)	Knochen-AP (U/l)	intestinale AP (U/l)	AP (U/l)	GLDH (U/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(1) 83,7 ± 0 83,7	(1) 3,6 ± 0 3,6	(1) 2,3 ± 0 2,3	(2) 41,3 ± 39,4 41,3 (13,4-69,2)	(2) 122 ± 26 122 (103-140)	(2) 38,9 ± 44,8 38,9 (7,2-70,5)
Ex. letalis (2)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(1) 60,7 ± 0 60,7	(1) 2,4 ± 0 2,4	(0)	(2) 45,1 ± 37,1 45,1 (18,9-71,3)	(2) 119 ± 52,3 119 (82-156)	(2) 30,6 ± 23,3 30,6 (14,1-47,0)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Ex. letalis					n.s.	n.s.	n.s.

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	ASAT (U/l)	GGT (U/l)	Bilirubin (µmol/l)	GEW (g/l)	Harnstoff (mmol/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(2) 111,2 ± 58,5 111,2 (69,8-152,5)	(2) 33,4 ± 10,0 33,4 (26,3-40,4)	(2) 11,7 ± 14,7 11,7 (1,3-22,1)	(2) 60,7 ± 11,1 60,7 (52,8-68,5)	(2) 10,47 ± 10,24 10,47 (3,23-17,71)
Ex. letalis (2)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(2) 91,8 ± 66,1 91,8 (45,0-138,5)	(2) 31,2 ± 8,4 31,2 (25,2-8,4)	(2) 9,1 ± 8,8 9,1 (2,9-15,3)	(2) 61,1 ± 3,7 61,1 (58,4-63,7)	(2) 4,0 ± 2,50 4,0 (2,23-5,76)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Ex. letalis		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	BHB (mmol/l)	Cholesterol (mmol/l)	Calcium (mmol/l)	Phosphat (mmol/l)	Leukozyten (G/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(2) 0,11 ± 0,03 0,11 (0,09-0,13)	(2) 2,15 ± 0,01 2,15 (2,14-2,15)	(2) 1,65 ± 0,01 1,65 (1,64-1,66)	(2) 1,87 ± 0,33 1,87 (1,63-2,10)	(2) 7,9 ± 5,1 7,9 (4,3-11,5)
Ex. letalis (2)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(2) 0,18 ± 0,02 0,18 (0,16-0,19)	(2) 1,91 ± 0,11 1,91 (1,83-1,99)	(2) 1,98 ± 0,30 1,98 (1,77-2,19)	(2) 1,36 ± 0,26 1,36 (1,17-1,54)	(2) 10,1 ± 4,2 10,1 (7,1-13,0)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Ex. letalis		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s. n.s.

Legende: n.s. = d.h. nicht signifikant, $p > 0,05$
1:2 = 1 ist signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von **2**

Anhang

Tabelle 23: Statistische Maßzahlen und signifikante Differenzen der Untersuchungen bei geheilten Patienten mit akuten Entzündungen zum Zeitpunkt der Aufnahme und der Entlassung

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	Leber-1-AP (U/l)	Leber-2-AP (U/l)	Knochen-AP (U/l)	intestinale AP (U/l)	AP (U/l)	GLDH (U/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(1) 23,2 ± 0 23,2	(1) 4,3 ± 0 4,3	(1) 35,3 ± 0 35,3	(6) 23,7 ± 10,9 20,8 (13,9-35,7)	(6) 86 ± 25 91 (61-107)	(6) 26,1 ± 36,7 13,2 (5,2-39,8)
Entlassung (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(1) 37,3 ± 0 37,3	(1) 12,5 ± 0 12,5	(0)	(6) 44,7 ± 35,9 35,7 (16,7-70,0)	(6) 132 ± 74 120 (99-185)	(6) 23,3 ± 31,1 13,4 (4,3-36,1)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Entlassung					n.s.	n.s.	n.s.

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	ASAT (U/l)	GGT (U/l)	Bilirubin (µmol/l)	GEW (g/l)	Harnstoff (mmol/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(6) 115,6 ± 60,4 103,7 (60,1-181,1)	(6) 21,6 ± 6,7 19,3 (16,6-27,0)	(6) 10,4 ± 5,4 10,9 (5,1-15,3)	(6) 68,5 ± 8,2 66,7 (62,6-72,4)	(6) 6,47 ± 3,02 6,77 (4,90-8,66)
Entlassung (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(6) 84,7 ± 55,0 66,2 (51,8-110,8)	(6) 23,1 ± 13,1 17,0 (15,6-31,9)	(6) 6,9 ± 5,0 5,5 (2,9-11,0)	(6) 65,2 ± 11,4 62,0 (58,1-70,9)	(6) 3,86 ± 1,27 3,89 (2,65-5,02)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Entlassung		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	BHB (mmol/l)	Cholesterol (mmol/l)	Calcium (mmol/l)	Phosphat (mmol/l)	Leukozyten (G/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(6) 0,35 ± 0,25 0,29 (0,21-0,46)	(6) 1,64 ± 1,27 1,23 (0,81-2,28)	(6) 1,38 ± 0,44 1,22 (1,02-1,85)	(6) 1,36 ± 0,25 1,42 (1,25-1,53)	(6) 10,2 ± 8,8 7,1 (4,2-15,6)
Entlassung (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(6) 0,26 ± 0,03 0,27 (0,22-0,28)	(6) 1,84 ± 1,16 1,40 (0,88-3,28)	(6) 1,45 ± 0,43 1,47 (1,10-1,73)	(6) 1,37 ± 0,60 1,26 (0,85-1,87)	(6) 8,8 ± 9,2 5,2 (3,7-13,5)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Entlassung		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Legende: n.s. = d.h. nicht signifikant, $p > 0,05$
1:2 = 1 ist signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von **2**

Anhang

Tabelle 24: Statistische Maßzahlen und signifikante Differenzen der Untersuchungen bei verstorbenen Patienten mit akuten Entzündungen zum Zeitpunkt der Aufnahme und des Exitus letalis

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	Leber-1-AP (U/l)	Leber-2-AP (U/L)	Knochen-AP (U/l)	intestinale AP (U/l)	AP (U/l)	GLDH (U/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(3) 62,6 ± 26,4 74,4 (32,4-81,1)	(3) 45,7 ± 71,7 4,8 (3,9-128,5)	(3) 7,9 ± 4,3 10,1 (3,0-10,7)	(3) 65,0 ± 27,8 55,1 (43,6-96,4)	(3) 181 ± 114 145 (90-309)	(3) 52,8 ± 27,7 65,3 (21,0-72,0)
Ex. letalis (2)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(3) 49,7 ± 19,8 57,3 (27,2-64,5)	(3) 25,1 ± 34,6 5,5 (4,8-65,1)	(3) 10,9 ± 13,0 5,8 (1,3-25,7)	(3) 91,9 ± 92,0 42,1 (35,5-198,1)	(3) 178 ± 134 130 (74-329)	(3) 26,2 ± 25,1 12,0 (11,4-55,2)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Ex. letalis		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	ASAT (U/l)	GGT (U/l)	Bilirubin (μmol/l)	GEW (g/l)	Harnstoff (mmol/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(3) 166,0 ± 49,9 158,2 (120,4-219,3)	(3) 121,3 ± 158,0 34,2 (26,0-303,6)	(3) 25,9 ± 28,9 10,3 (8,1-59,3)	(3) 73,2 ± 15,6 71,5 (58,5-89,6)	(3) 14,51 ± 12,54 12,34 (3,2-28,0)
Ex. letalis (2)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(3) 90,5 ± 47,3 89,0 (43,9-138,5)	(3) 42,1 ± 19,6 31,9 (29,7-64,7)	(3) 24,0 ± 24,5 17,2 (3,6-51,2)	(3) 68,8 ± 5,2 65,9 (65,8-74,8)	(3) 8,15 ± 1,09 7,77 (7,31-9,38)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Ex. letalis		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	BHB (mmol/l)	Cholesterol (mmol/l)	Calcium (mmol/l)	Phosphat (mmol/l)	Leukozyten (G/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(3) 0,31 ± 0,24 0,44 (0,04-0,46)	(3) 3,96 ± 3,63 2,09 (1,64-8,14)	(3) 1,90 ± 0,34 2,06 (1,51-2,12)	(3) 1,06 ± 0,46 1,04 (0,61-1,53)	(3) 10,1 ± 5,0 11,4 (4,5-14,3)
Ex. letalis (2)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(3) 0,21 ± 0,19 0,16 (0,06-0,42)	(3) 3,01 ± 3,12 1,88 (0,61-6,53)	(3) 2,06 ± 0,30 2,15 (1,72-2,30)	(3) 1,26 ± 0,67 1,28 (1,19-1,32)	(3) 11,1 ± 11,1 5,1 (4,2-23,9)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Ex. letalis		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Legende: n.s. = d.h. nicht signifikant, $p > 0,05$
1:2 = 1 ist signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von **2**

Anhang

Tabelle 25: Statistische Maßzahlen und signifikante Differenzen der Untersuchungen bei geheilten Patienten mit Leberbelastung zum Zeitpunkt der Aufnahme und der Entlassung

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	Leber-1-AP (U/l)	Leber-2-AP (U/l)	Knochen-AP (U/l)	intestinale AP (U/l)	AP (U/l)	GLDH (U/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(5) 131,4 ± 50,9 148,7 (78,4-175,7)	(5) 9,2 ± 7,5 6,6 (4,3-15,5)	(5) 26,0 ± 24,1 10,3 (7,5-52,4)	(5) 37,5 ± 36,6 33,4 (10,0-67,0)	(5) 204 ± 106 199 (103-308)	(5) 298,8 ± 193,9 217,1 (145,6-492,8)
Entlassung (2)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(5) 156,7 ± 109,0 137,2 (76,8-246,4)	(5) 13,7 ± 11,7 7,9 (6,8-23,6)	(5) 30,9 ± 22,9 28,8 (12,0-50,9)	(5) 32,9 ± 33,5 16,8 (13,2-60,7)	(5) 234 ± 175 202 (113-374)	(5) 146,6 ± 72,0 114,2 (87,6-221,8)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Entlassung		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	ASAT (U/l)	GGT (U/l)	ALAT (U/l)	Bilirubin (μmol/l)	GEW (g/l)	Harnstoff (mmol/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(5) 254,9 ± 89,2 260,8 (185,9-321,0)	(5) 138,2 ± 74,6 140,8 (71,6-203,6)	(5) 16,5 ± 4,9 15,4 (12,7-20,8)	(5) 15,2 ± 7,6 12,8 (10,0-21,6)	(5) 80,5 ± 2,1 79,7 (78,9-82,7)	(5) 5,54 ± 0,95 5,37 (4,81-6,36)
Entlassung (2)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(5) 157,4 ± 61,8 123,1 (114,0-218,0)	(5) 161,0 ± 96,1 161,9 (75,1-246,5)	(5) 11,8 ± 1,4 11,6 (10,7-13,0)	(5) 13,6 ± 6,3 10,8 (8,3-20,4)	(5) 71,1 ± 4,5 70,0 (67,0-75,9)	(5) 4,21 ± 1,45 4,56 (2,98-5,28)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Entlassung		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1:2	1:2

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	BHB (mmol/l)	Cholesterol (mmol/l)	Calcium (mmol/l)	Phosphat (mmol/l)	Leukozyten (G/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(5) 4,62 ± 2,58 5,36 (2,30-6,57)	(5) 4,07 ± 1,36 3,82 (3,07-5,21)	(5) 1,99 ± 0,18 1,90 (1,85-2,18)	(5) 1,31 ± 0,51 1,26 (0,90-1,76)	(5) 9,0 ± 3,0 8,0 (6,7-11,8)
Entlassung (2)	(n) $\bar{x} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(5) 0,62 ± 0,18 0,56 (0,47-0,82)	(5) 3,66 ± 1,47 3,18 (2,59-4,98)	(5) 1,96 ± 0,12 1,91 (1,87-2,09)	(5) 1,51 ± 0,43 1,45 (1,17-1,88)	(5) 5,9 ± 2,6 5,8 (3,8-8,1)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Entlassung		n.s.	1:2	n.s.	n.s.	n.s.

Legende: n.s. = d.h. nicht signifikant, $p > 0,05$
1:2 = 1 ist signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von **2**

Anhang

Tabelle 26: Statistische Maßzahlen und signifikante Differenzen der Untersuchungen bei verstorbenen Patienten mit Leberbelastung zum Zeitpunkt der Aufnahme und des Exitus letalis

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	Leber-1-AP (U/l)	Leber-2-AP (U/l)	Knochen-AP (U/l)	intestinale AP (U/l)	AP (U/l)	GLDH (U/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(2) 131,6 ± 28,3 131,6 (111,6-151,6)	(2) 6,9 ± 3,0 6,9 (4,8-9,0)	(2) 20,0 ± 9,3 20,0 (13,4-26,5)	(2) 26,1 ± 12,8 26,1 (17,0-35,1)	(2) 185 ± 9 185 (178-191)	(2) 138,7 ± 55,6 138,7 (99,3-178,0)
Ex. letalis (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(2) 130,2 ± 47,4 130,2 (96,7-163,7)	(2) 10,2 ± 6,4 10,2 (5,6-14,7)	(2) 58,8 ± 48,9 58,8 (24,2-93,4)	(2) 64,4 ± 70,5 64,4 (14,5-114,2)	(2) 259 ± 180 259 (131-386)	(2) 91,8 ± 0,8 91,8 (91,2-92,4)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Ex. letalis		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Entnahme	statistische Maßzahlen	ASAT (U/l)	GGT (U/l)	ALAT (U/l)	Bilirubin (µmol/l)	GEW (g/l)	Harnstoff (mmol/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(2) 323,3 ± 50,2 323,3 (287,8-358,8)	(2) 117,9 ± 86,6 117,9 (56,6-179,1)	(5) 19,5 ± 2,1 19,5 (18,0-21,0)	(2) 36,1 ± 16,6 36,1 (24,3-47,8)	(2) 77,3 ± 5,0 77,3 (74,0-80,5)	(2) 3,30 ± 1,24 3,30 (2,42-4,17)
Ex. letalis (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(23) 458,4 ± 376,7 458,4 (192,0-724,7)	(2) 124,4 ± 90,2 124,4 (60,6-188,1)	(5) 18,7 ± 10,7 18,7 (11,1-26,2)	(2) 37,5 ± 25,1 37,5 (19,7-55,2)	(2) 73,3 ± 3,9 73,3 (70,5-76,0)	(2) 3,73 ± 1,79 3,73 (2,46-4,99)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Ex. letalis		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Entnahme	statistische Maßzahlen	BHB (mmol/l)	Cholesterol (mmol/l)	Calcium (mmol/l)	Phosphat (mmol/l)	Leukozyten (G/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(2) 1,93 ± 0,36 1,93 (1,67-2,18)	(2) 2,29 ± 0,87 2,29 (1,67-2,90)	(2) 2,07 ± 0,15 2,07 (1,96-2,17)	(2) 1,24 ± 0,01 1,24 (1,23-1,24)	(2) 4,5 ± 0,6 4,5 (4,0-4,9)
Ex. letalis (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(2) 0,44 ± 0,12 0,44 (0,35-0,52)	(2) 1,87 ± 0,74 1,87 (1,34-2,39)	(2) 2,14 ± 0,13 2,14 (2,05-2,23)	(2) 1,36 ± 0,81 1,36 (0,79-1,93)	(2) 6,6 ± 2,1 6,6 (5,1-8,0)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Ex. letalis		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Legende: n.s. = d.h. nicht signifikant, $p > 0,05$
1:2 = 1 ist signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von **2**

Tabelle 27: Statistische Maßzahlen der Untersuchungen bei Patienten mit LMV li zum Zeitpunkt der Aufnahme und der Entlassung

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	Leber-1-AP (U/l)	Leber-2-AP (U/l)	Knochen-AP (U/l)	intestinale AP (U/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(8) 84,0 ± 43,8 71,8 (55,8-125,7)	(8) 9,2 ± 6,4 7,0 (4,4-13,2)	(6) 18,8 ± 18,0 13,1 (7,0-27,9)	(11) 39,8 ± 28,0 30,1 (18,2-72,7)
Entlassung (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(8) 84,2 ± 47,8 72,7 (48,2-101,3)	(8) 9,2 ± 4,1 9,0 (7,3-12,3)	(8) 17,8 ± 12,4 13,7 (9,0-31,5)	(11) 27,8 ± 20,0 24,2 (16,1-35,2)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Entlassung		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Legende: n.s. = d.h. nicht signifikant, $p > 0,05$
1:2 = 1 ist signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von **2**

Tabelle 28: Statistische Maßzahlen der Untersuchungen bei Patienten mit LMV re zum Zeitpunkt der Aufnahme und der Entlassung bzw. des Exitus letalis

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	Leber-1-AP (U/l)	Leber-2-AP (U/l)	Knochen-AP (U/l)	intestinale AP (U/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(2) 63,5 ± 28,6 63,5 (43,3-83,7)	(2) 2,5 ± 1,6 2,5 (1,4-3,6)	(2) 4,7 ± 3,4 4,7 (2,3-7,1)	(7) 39,8 ± 40,9 23,0 (13,4-69,2)
Entlassung bzw. Ex letalis (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(2) 44,6 ± 22,8 44,6 (28,5-60,7)	(2) 2,1 ± 0,5 2,1 (1,7-2,4)	(1) 19,3 ± 0 19,3	(7) 34,4 ± 23,7 29,4 (14,5-61,4)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Entlassung		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Legende: n.s. = d.h. nicht signifikant, $p > 0,05$
1:2 = 1 ist signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von **2**

Anhang

Tabelle 29: Statistische Maßzahlen der Untersuchungen bei Patienten mit akuten Entzündungen zum Zeitpunkt der Aufnahme und der Entlassung bzw. des Exitus letalis

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	Leber-1-AP (U/l)	Leber-2-AP (U/l)	Knochen-AP (U/l)	intestinale AP (U/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(4) 52,8 ± 29,2 53,4 (25,5-79,4)	(4) 35,4 ± 62,1 4,6 (4,0-97,6)	(4) 14,8 ± 14,0 10,4 (4,8-29,2)	(9) 37,5 ± 26,3 34,5 (16,1-49,4)
Entlassung bzw. Ex. letalis (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(4) 46,6 ± 17,3 47,3 (29,7-62,7)	(4) 22,0 ± 29,0 9,0 (5,0-52,0)	(3) 10,9 ± 13,0 5,8 (1,3-25,7)	(9) 60,4 ± 59,0 42,1 (18,1-82,4)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Entlassung		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Legende: n.s. = d.h. nicht signifikant, $p > 0,05$
1:2 = 1 ist signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von **2**

Tabelle 30: Statistische Maßzahlen der Vergleichsuntersuchungen bei Patienten mit Leberbelastung zum Zeitpunkt der Aufnahme und der Entlassung bzw. des Exitus letalis

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	Leber-1-AP (U/l)	Leber-2-AP (U/l)	Knochen-AP (U/l)	intestinale AP (U/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(7) 131,4 ± 43,1 148,7 (82,0-159,9)	(7) 8,6 ± 6,3 6,6 (4,5-9,0)	(7) 24,3 ± 20,3 13,4 (7,8-51,1)	(7) 34,2 ± 30,8 33,4 (16,3-35,2)
Entlassung bzw. Ex. letalis (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(7) 149,1 ± 43,1 137,2 (87,2-163,7)	(7) 12,7 ± 10,1 7,9 (6,3-14,7)	(7) 38,9 ± 30,6 28,8 (13,2-67,9)	(7) 41,9 ± 42,6 16,8 (14,5-91,6)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Entlassung		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Legende: n.s. = d.h. nicht signifikant, $p > 0,05$
1:2 = 1 ist signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von **2**

Anhang

Tabelle 31: Statistische Maßzahlen der Vergleichsuntersuchungen bei geheilten Patienten zum Zeitpunkt der Aufnahme und der Entlassung

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	Leber-1-AP (U/l)	Leber-2-AP (U/l)	Knochen-AP (U/l)	intestinale AP (U/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(15) 93,0 ± 52,9 74,8 (54,1-148,7)	(15) 8,3 ± 6,5 5,2 (4,3-10,2)	(13) 21,9 ± 19,4 10,3 (7,1-43,2)	(27) 35,7 ± 30,0 26,0 (16,3-37,3)
Entlassung (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(15) 101,5 ± 80,4 79,1 (43,0-137,2)	(15) 10,4 ± 7,6 7,9 (7,2-12,7)	(14) 22,6 ± 16,9 16,8 (10,8-33,5)	(27) 32,9 ± 26,2 24,2 (15,0-47,9)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Entlassung		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Legende: n.s. = d.h. nicht signifikant, $p > 0,05$
1:2 = 1 ist signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von **2**

Tabelle 32: Statistische Maßzahlen der Vergleichsuntersuchungen bei verstorbenen Patienten zum Zeitpunkt der Aufnahme und des Exitus letalis

Zeitpunkt	statistische Maßzahlen	Leber-1-AP (U/l)	Leber-2-AP (U/l)	Knochen-AP (U/l)	intestinale AP (U/l)
Aufnahme (1)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(6) 89,1 ± 39,8 82,4 (63,9-121,6)	(6) 25,8 ± 50,4 4,8 (3,8-38,9)	(6) 11,0 ± 8,8 10,4 (2,8-16,7)	(7) 47,1 ± 29,4 43,6 (17,0-69,2)
Ex. letalis (2)	(n) $\bar{X} \pm s$ Median (1.-3. Quartil)	(6) 78,4 ± 47,3 62,6 (49,8-113,5)	(6) 16,4 ± 24,3 5,6 (4,2-27,3)	(5) 30,1 ± 37,0 24,2 (3,6-59,6)	(7) 70,7 ± 65,9 42,1 (18,9-114,2)
Signifikanz zwischen Aufnahme und Ex. letalis		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Legende: n.s. = d.h. nicht signifikant, $p > 0,05$
1:2 = 1 ist signifikant ($p \leq 0,05$) verschieden von **2**